

M-Blot T4000系列 快速转膜仪 快速操作指南

视频号　公众号

ZKTONY 南京中科通仪

步骤1: 仪器/转膜盒检查、试剂准备



- 使用前确认管路及管路接头正常连接、洁净无异物。
- 请确保试剂充足(标准程序转膜液消耗量:500mL/通道),清空废液桶。
- 试剂准备:

  转膜缓冲液:使用标准程序的转膜实验准备1×转膜缓冲液600-700mL(含凝胶、膜、海绵浸润用量)。

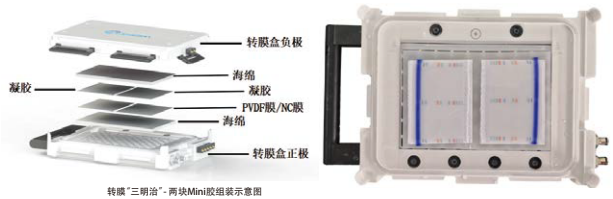
  清洗液:使用标准程序的转膜实验准备纯水500mL(含冷却、清洗用量)。
- ⚠ 使用前请清空废液桶。

步骤2: 样本准备



- 将电泳后的浓缩胶以及胶柱切除,然后将膜、凝胶放入装有转膜缓冲液的WB反应盒中,使凝胶和膜充分浸没在转膜缓冲液中,平衡2分钟(凝胶平衡时间<3分钟);
- 将配套使用的海绵放入装有转膜缓冲液的容器中,充分浸润。
- ⚠ PVDF膜需使用异丙醇激活后再平衡,激活后未平衡的PVDF膜会降低转膜效率。

步骤3: 制备转膜“三明治”(两块胶)



转膜“三明治”- 两块Mini胶组装示意图

- 打开转膜盒,将转膜盒正极平放于桌面上(带黑色把手的为正极,不带黑色把手的为负极);
- 在转膜盒正极网格框内,依次平铺1片充分浸润的转膜海绵、平衡后的膜、平衡后的凝胶,使用沾有转膜缓冲液的转印滚子轻轻滚动去除凝胶与膜之间的气泡,再在凝胶上平铺另一片充分浸润的海绵,盖上转膜盒负极,扣紧锁扣。

步骤3:制备转膜“三明治”(一块胶)



转膜“三明治”- 一块Mini胶组装示意图

- ⚠ 确保转膜盒内侧标注“上”与“UP”正置;
- ⚠ 海绵摆放时上端与箭头齐平,不要超过箭头;
- ⚠ 确保平铺后的凝胶完全在膜内;
- ⚠ 两块 mini 凝胶边缘不要重叠/接触;
- ⚠ 尽快进行转膜"三明治"组装操作,避免凝胶和膜变干。

步骤4: 开始转膜实验



- 将转膜盒模块插入仪器对应通道中(转膜缓冲液、清洗液和 废液桶正确连接),通道指示灯亮起,软件显示“已就绪”;
- 选择合适的转膜程序,点击“开始”,仪器进行自动填充并开始转膜。
- ⚠ 组装好的转膜“三明治”,请在5分钟内进行转膜。

步骤5:转膜结束



- 程序运行结束,语音提示实验结束,同时仪器对应通道指示灯呈现绿色闪烁状态,软件对应通道状态栏恢复“已就绪”状态;
- 取出转膜盒,打开“三明治”将膜迅速取出进行后续实验;
- 将转膜盒正极、负极组合、扣紧锁扣,并插入仪器对应通道中(清洗液充足、废液桶清空),点击“清洗”,仪器自动进行清洗操作。待清洗结束后,取出转膜盒,打开转膜盒、晾干即可。
- ⚠ 打开“三明治”将膜迅速取出,浸入纯水或封闭液中,防止干膜;若 PVDF 膜失活,需要在异丙醇中重新激活2分钟。



M-Blot T4000系列
快速转膜仪
快速操作指南

视频号　公众号

ZKTONY 南京中科通仪

转膜程序推荐

凝胶规格：1.0mm胶								
目的蛋白	6%	7.5%/8%	10%	12%/12.5%	15%	梯度4-12%	梯度8-15%	梯度4-20%
＜20kDa	-	-	快速	标准	标准	延长	延长	延长
20-70kDa	-	标准	标准	标准	延长			
70-250kDa	延长	延长	延长	延长	-			

凝胶规格：1.5mm胶								
目的蛋白	6%	7.5%/8%	10%	12%/12.5%	15%	梯度4-12%	梯度8-15%	梯度4-20%
＜20kDa	-	-	标准	标准	延长	延长	延长	延长
20-70kDa	-	标准	延长	延长	延长			
70-250kDa	延长	延长	延长	延长	-			

1. 若同一张膜上需同时转印分子量差异较大的蛋白，优先采用针对大分子蛋白的推荐条件，以确保其转印效率，小分子蛋白通常在此条件下亦可有效转印；
2. 表中“-”表示不推荐在该浓度转印相应大小的蛋白；
3. 对于超大分子量蛋白（≥ 250 kDa），视情况需要针对性地优化转膜条件，涉及调整转膜时间、电压以及凝胶浓度、厚度等参数，具体请与技术支持沟通。