

PVDF / NC 转印膜 使用说明

蛋白免疫印迹 (Western Blot) 专用

产品简介

PVDF (聚偏氟乙烯) 膜: 疏水膜, 蛋白结合力高, 背景低, 灵敏度高。使用前须用甲醇预润湿。

NC (硝酸纤维素) 膜: 亲水膜, 无需预润湿, 操作简便。两种膜均有 0.22 μm 和 0.45 μm 两种孔径, 可结合广泛分子量蛋白。

规格与选型

参 数	PVDF 膜	NC 膜
孔径	0.22 μm / 0.45 μm	0.22 μm / 0.45 μm
预润湿	甲醇预润湿 (10 - 20 秒)	无需预润湿
蛋白结合力	高	中高
背景水平	低	低
机械强度	高, 可重复剥离	中等
化学兼容性	宽	中等
适用蛋白范围	0.22 μm : 分子量 < 20 kDa 0.45 μm : 大部分蛋白	0.22 μm : 分子量 < 20 kDa 0.45 μm : 大部分蛋白
主要应用	免疫检测、氨基酸分析、蛋白测序	免疫检测

操作前准备

【材料准备】

- 膜: 按凝胶尺寸裁剪 (操作全程戴手套, 勿折叠、勿划伤)。
- PVDF 膜: 甲醇润湿 10 - 20 秒 $\rightarrow$ 超纯水冲洗 1 - 2 min $\rightarrow$ 转移缓冲液平衡 2 - 3 min。
- NC 膜: 直接浸入转移缓冲液平衡即可 (无需甲醇步骤)。
- 凝胶: 在转移缓冲液中平衡 10 - 15 min。
- 滤纸: 按凝胶尺寸裁剪, 在转移缓冲液中浸泡 ≥ 30 秒。
- 一抗、二抗: 用抗体稀释液或封闭缓冲液稀释备用。

【转移缓冲液配方】

湿转 (槽转): 25 mM Tris, 192 mM 甘氨酸, pH 8.3, 10 - 20% 甲醇

半干转: 48 mM Tris, 39 mM 甘氨酸, pH 9.2, 10 - 20% 甲醇

转移方法对比

对比项	湿转 (槽转)	半干转
转移时间	慢 (1 小时以上)	快 (7 - 45 分钟)
缓冲液体积	≥ 0.5 L (依系统而定)	约 0.05 L / 凝胶
运行方式	恒压或恒流	恒流
凝胶平衡	建议平衡	≥ 15 分钟
适用场景	大分子蛋白、大量凝胶	小分子蛋白、快速筛查
缓冲系统	连续 (单缓冲)	连续或不连续 (3 区缓冲)
SDS 建议添加	0.0 - 0.05%	0.0 - 0.05%



提示：醇类（甲醇/乙醇/异丙醇）可稳定凝胶尺寸并剥离 SDS；大蛋白或难溶蛋白建议降低醇浓度并添加少量 SDS。

操作步骤

【1. 蛋白电转移】

- 按转移装置说明书组装转印“三明治”（滤纸 - 膜 - 凝胶 - 滤纸），注意排除气泡。
- PVDF 膜靠近阳极（蛋白从阴极凝胶向阳极膜迁移）；NC 膜同理。
- 按设备参数进行电转移（见上表对比）。
- 转移结束后，超纯水短暂冲洗膜，去除凝胶碎屑。
- 印迹可风干后 4℃ 储存数月，或立即进行免疫检测。

注意：膜一旦润湿切勿再变干；如变干须重新按步骤润湿。

【2. 免疫检测】

- 封闭：印迹置于封闭缓冲液（0.5 - 5% BSA / 脱脂奶粉 / 酪蛋白）中，温和搅拌孵育 1 小时。
- 一抗孵育：稀释一抗孵育 1 小时（或 4℃ 过夜）。
- 洗涤：TBST / PBST 洗涤 3 - 5 次，每次 5 分钟。
- 二抗孵育：HRP 或 AP 标记二抗稀释后孵育 1 小时。
- 洗涤：TBST / PBST 洗涤 3 - 5 次，每次 5 分钟。
- 检测：加入化学发光或显色底物，孵育 1 - 5 分钟后成像。

注意事项

- 操作全程戴手套，用钝头镊子夹取膜，避免指纹和划伤。
- PVDF 膜必须甲醇预润湿；NC 膜无需此步骤。
- 膜润湿后切勿变干，否则需重新润湿。
- 免疫检测前干燥印迹可增强某些蛋白结合并降低背景。
- 封闭液、抗体浓度等需根据具体蛋白优化。

应用选择参考

应 用	推荐膜型号
一般免疫检测（Western Blot）	PVDF 或 NC, 0.45 μm
氨基酸分析	PVDF, 0.45 μm
低丰度 / 小分子量蛋白免疫检测	PVDF 或 NC, 0.22 μm
低丰度 / 小分子量蛋白测序	PVDF, 0.22 μm

产品目录

货号	规 格	包 装
E01A-0001	PVDF 转印膜, 0.2 μm, 60×90 mm	20 片 / 盒
E01A-0002	PVDF 转印膜, 0.45 μm, 60×90 mm	20 片 / 盒
E01A-0003	NC 转印膜, 0.22 μm, 60×90 mm	20 片 / 盒
E01A-0004	NC 转印膜, 0.45 μm, 60×90 mm	20 片 / 盒
E01A-0005	PVDF 转印膜, 0.2 μm, 卷膜 270×3750 mm	1 卷 / 盒
E01A-0006	PVDF 转印膜, 0.45 μm, 卷膜 270×3750 mm	1 卷 / 盒
E01A-0007	NC 转印膜, 0.22 μm, 卷膜 270×3750 mm	1 卷 / 盒
E01A-0008	NC 转印膜, 0.45 μm, 卷膜 270×3750 mm	1 卷 / 盒

