

mmunoblot PVDF/NC Membrane

上海聚顶生物科技有限公司(Shanghai Juding Biotechnology Co., Ltd.)是成立于2020年9月的一家专注于细胞培养，分子生物学试剂、生物医学科研集研发、销售于一体的服务于生物医药企业和各大科研院所客户的高科技生物企业。主要产品有：KEL Biotech品牌胎牛血清、培养基、胰酶、双抗、无血清冻存液等细胞培养相关试剂，以及PCR、QPCR分子酶类相关分子试剂；原代细胞、细胞系等比较齐全的细胞库；

技术服务类：慢病毒(LV)、腺病毒(ADV)、腺相关病毒(AAV)包装；CRISPY Cas9敲除，稳定细胞株构建。

耗材类：超滤管，转印膜(PVDF/NC、NC)



产品	货号	孔径大小	规格	价格
0.45μm, PVDF转印膜 300*3000mm	KELPVDF0453030	0.45um	300*3000mm	询价
0.22μm, PVDF转印膜 300*3000mm	KELPVDF0223030	0.22um	300*3000mm	询价
0.45μm, NC转印膜 300*3000mm	KELNC0453030	0.45um	300*3000mm	询价
0.22μm, NC转印膜 300*3000mm	KELNC0223030	0.22um	300*3000mm	询价

(产品提供免费试用装，请随时与我们联系)

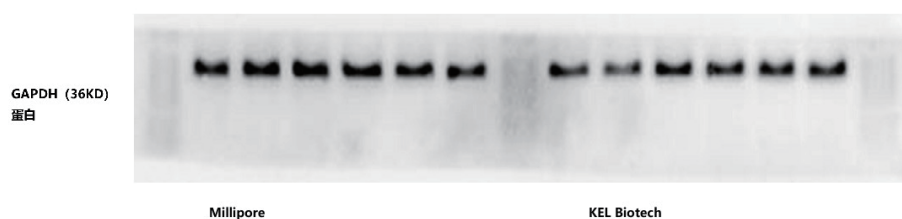


上海聚顶生物科技有限公司
电话：15002166056
邮箱：order@jdbiotech.cn
官网：www.jdbiotech.cn

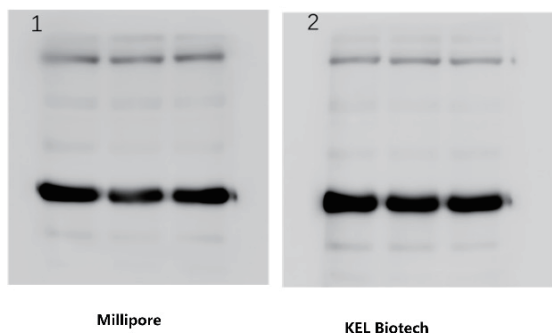
结果展示

案例1

GAPDH大小36KD，结果与预期一致，同时能够表明结合KEL Biotech PVDF膜能够结合分子量较大蛋白；同样的实验条件和曝光条件，KEL Biotech PVDF膜条带更强。

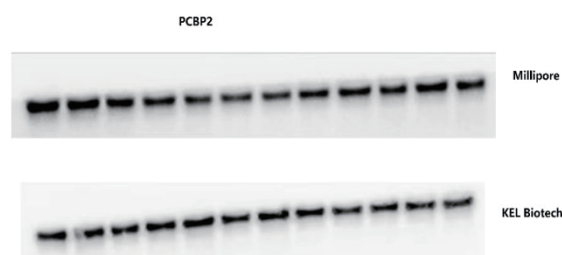


案例2



目的蛋白大小45KD，结果与预期一致；KEL Biotech PVDF膜结果中的带型和灰度一致性更好。

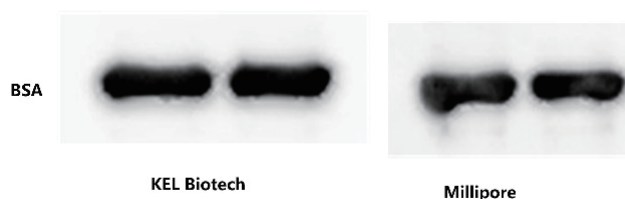
案例3



条带清晰，背景干净；结果与预期一致。同样的实验条件和曝光条件，KEL Biotech PVDF膜条带更强。

案例4

标准蛋白BSA，结果与预期一致；条带清晰，带型正常



Immunoblot PVDF/NC Membrane

● PVDF/NC转印膜介绍

PVDF/NC膜是由聚偏氟乙烯（PVDF/NC）制成的一种多孔膜，通常用于生物科技和化学分离和纯化过程中的过滤应用。其中PVDF/NC转印膜是一种用于蛋白质转印的膜，可以用于将凝胶上分离的蛋白质转移到PVDF/NC膜，然后使用特定的抗体进行蛋白质免疫印迹（Western blotting）分析。此外PVDF/NC转印膜还可用于质谱分析和其他分析技术中的蛋白质分析。

在使用时需要注意适当的条件和操作步骤，以确保膜的质量和性能。PVDF/NC转印膜使用前通常使用甲醇、酸或酶等化学物质进行激活，以增加其与蛋白质的结合能力。在进行转印之前，需要将膜切割为适当的大小和形状，并将其与凝胶和电泳缓冲液进行组装。通过适当的转印条件（电流、电压和时间等），有时需要根据不同的应用和蛋白样品来进行调整优化。

● Western blot操作流程

经过多年不断的研发和优化，KEL Biotech品牌PVDF/NC转印膜产品于2023年上市，无论内部研发数据，还是外部科研人员试用反馈，Western blot的使用效果均可以媲美甚至优于进口品牌，与您常规转印方式相同。

经比较KEL Biotech品牌PVDF/NC膜对蛋白的结合能力更强，因此与您原来的操作过程相比，蛋白转印时间、一抗孵育时间、二抗孵育时间和曝光时间等过程可适当缩短，缩短您的实验时间

样品：将待测样品进行处理（细胞裂解和组织匀浆等）获取蛋白质样品。可直接进行后面电泳操作，或将样品置于负80或负20度冰箱保存。

电泳：根据检测目的蛋白大小配制适合浓度的SDS-PAGE胶，最常用10%的胶浓度，能够较好地分离15KD~135KD的蛋白，如果蛋白较大，可缩小胶浓度，蛋白较小，可增加胶浓度。

转印：将电泳分离后的蛋白质转移到PVDF/NC膜。通常使用湿式转移电泳法，按照“负极-海绵-滤纸-蛋白胶-PVDF/NC膜-滤纸-海绵-正极”的顺序组装，整个操作建议浸润在转印液中进行，减少引入气泡。转印槽至于冰水浴中或4度冰箱中，防止温度过高影响转印效果。

封闭：将PVDF/NC膜在5%的脱脂奶粉或3%的BSA等进行封闭，避免非特异性结合，减少背景信号，室温孵育1h。

一抗孵育：新鲜配置或重复使用均可，在室温孵育1~2h，或4度孵育过夜，使抗体与待检测蛋白质结合。

洗涤：缓冲液洗涤膜上非特异性结合的抗体和蛋白质，降低背景信号。

二抗孵育：加入与一抗来源不同的二抗，与一抗结合。二抗通常标记有酶或荧光基团，用于后续检测。

洗涤：缓冲液洗涤膜上非特异性结合的二抗，降低背景信号。

检测（曝光）：常用酶联检测（例如与二抗结合的HRP或AP），底物有显色、化学发光和化学荧光三种类型，也可使用与二抗直接结合的荧光基团检测。

（KEL Biotech品牌PVDF/NC膜可用于所有常见检测方式）

图像获取：通过专业的成像仪器如激光扫描仪、CCD相机等获取膜上信号，并进行定量分析。



Immunoblot PVDF/NC Membrane

Q 常见问题

问：0.45um和0.22um两款膜我应该怎么选择？

答：膜的选择是由实验目的决定的，0.45um的使用场景相对较多，大多数的WB实验中使用0.45um，但如果检测低分子量蛋白时可选择0.22um膜（通常小于20KD会选择0.22um孔径）。

问：KEL Biotech PVDF/NC膜上的预染蛋白Marker有些弱，是因为转印时间不够吗？

答：预染蛋白Marker是多个已知大小的蛋白与染料预先结合构成的，起到指示蛋白大小的作用，也有很多使用者把预染Marker看作转印是否的指标成功。KEL Biotech品牌PVDF/NC膜也能够正常结合Marker，不过经过大量的实验对比，KEL Biotech品牌PVDF/NC膜结合蛋白能力更强，但由于蛋白Marker与染料的结合影响了吸附到膜上的能力，导致预染蛋白Marker有些弱，并不是转印时间不够。

问：转印前一定要用甲醇浸泡吗？

答：是的。PVDF/NC转印膜为疏水性膜，必须经过甲醇等醇溶液浸泡才能够在水性缓冲液和转印系统中使用，PVDF/NC膜充分浸湿后才能够实现与缓冲液中蛋白的结合。

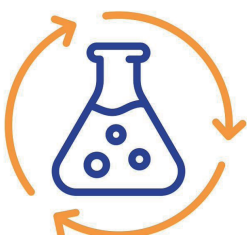
问：WB结果条带不整齐，或者缺一块，是膜不均匀吗？

答：所有PVDF/NC膜生产后都会进行质量检测，不会有膜不均匀情况，条带不整齐或不完整通常是由于转印操作造成，例如有气泡导致转印不均一；转印温度过高导致蛋白胶变形等。

问：背景有些黑色点点，是什么原因呢？

答：曝光结果背景不干净通常是由于封闭时间过短、抗体孵育后洗涤不够、一抗本身特异性不好；一抗或二抗重复使用导致杂质增加和曝光时间过长等原因导致，可根据实际操作适当优化调节。

实验注意事项：



- 操作时应注意无菌条件，避免污染。
- 可通过丽春红染色观察PVDF/NC膜转印情况，不影响后续免疫检测。
- 一抗和二抗的浓度可根据不同应用场景和初次实验结果优化。
- 洗涤过程需要充分，否则会增加背景。
- 显示染色需根据实验需要进行优。