

PVDF Transfer Membranes

高效转印，韧而不脆，可剥离再生，背景干净，高吸附蛋白

产品货号：P30011, P30012

产品规格：0.45 μm / 0.22 μm , 6 cm $\times$ 9 cm / 30 cm $\times$ 3 m

储运条件：室温避光保存，常温运输。

产品简介：

PVDF Transfer Membranes（聚偏二氟乙烯膜，PVDF膜）是生物分子印迹领域中常用的一种生物膜，其原理基于多孔结构与生物大分子的多重相互作用，通过静电引力与疏水作用力实现对目标分子的高效捕获，是免疫印迹等实验的核心载体。该膜对蛋白质具有高吸附力，0.22 μm 膜的BSA吸附量为 328 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，0.45 μm 膜的BSA吸附量为 245 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，可实现蛋白从胶到膜的转印，具有优异的蛋白质保留率、高物理强度和宽化学兼容性，常用于Western Blot、Southern Blot、Northern Blot、氨基酸或蛋白质分析。其 0.22 μm 与 0.45 μm 双孔径设计，可针对性捕获<20 kDa小分子蛋白及>20 kDa大分子蛋白，为实验提供精准的分离效果。

PVDF膜的出现解决了传统生物膜在蛋白质转移中的关键痛点：传统硝酸纤维素膜（NC膜）虽易操作，但机械强度低、耐化学腐蚀性差，难以应对复杂实验（如长时间转移、强溶剂处理）。而PVDF膜凭借高结晶度与强分子链韧性，实现蛋白质保留率的显著提升(>95%)，为蛋白质组学、疾病标志物筛选等研究提供了更可靠的数据基础。

在临床诊断领域，PVDF膜的高吸附力与重复使用性（支持抗体剥离后多次检测）大幅降低了实验成本，推动了个性化医疗与精准诊断技术的发展。例如，在肿瘤标志物筛查中，其稳定的蛋白保留能力确保了检测结果的重复性与准确性。此外，其宽化学兼容性使其成为跨学科研究的理想选择，从基础生命科学（如蛋白质互作研究）到生物医药产业（如诊断试剂规模化生产），PVDF膜均是推动生物检测技术进步的核心耗材，为解析生命活动本质、加速疾病诊疗创新提供了关键支撑。

注：效能等同MILLIPORE Hi-Flow™ Plus硝酸纤维素膜。

注：本文中 Hi-Flow™ 为默克集团的商标及注册商标。

应用范围：Western Blot、Southern Blot、Northern Blot、氨基酸或蛋白质分析

产品特点：

- **高蛋白结合容量：**0.22 μm 膜的BSA吸附量 328 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，0.45 μm 膜的BSA吸附量 245 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ；
- **可剥离再生：**适当处理后可重复使用，实现“一膜多用”，降低成本；
- **多检测方法兼容：**支持丽春红、考马斯亮蓝染色，兼容Western Blot等；
- **机械强度高：**韧性高，耐受多次清洗和复杂操作（如多重免疫检测），不易破裂或卷曲，易操作和保存；
- **双孔径精准设计：**0.45 μm 孔径膜适合>20 kDa的蛋白质，0.22 μm 孔径膜适合<20 kDa的蛋白质；
- **低背景干扰：**表面均一性优异，非特异性吸附极低，信噪比高，确保条带清晰；
- **化学兼容性广：**耐有机溶剂、高温（90 $^{\circ}\text{C}$ 连续工作）及强酸碱，保障蛋白在严苛条件下的稳定结合。

产品组分：

组分	孔径	尺寸规格
PVDF Transfer Membranes	0.22 μm / 0.45 μm	6 cm $\times$ 9 cm / 30 cm $\times$ 3 m

注意事项：

- 使用前，应检查产品的包装是否完好，如发现包装破损或产品受潮、污染等情况，应停止使用。
- 根据目标分子大小决定使用膜的孔径，根据实验需求选择合适尺寸的膜。
- 使用0.22 μm 膜前，必须用0.22 μm 滤器过滤，去除细胞碎片、颗粒等杂质，避免堵塞膜孔。



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probilives Technology CO., LTD.

- 使用PVDF膜前，需要进行活化操作。务必确保膜在甲醇中完全浸润、均匀变为半透明。活化不彻底会导致转印失败。
- 转印方向务必确认凝胶朝向阴极，PVDF膜朝向阳极。方向错误会导致蛋白无法转印到膜上。
- 在操作过程中，应避免用手直接接触膜表面，防止皮肤油脂污染。如需接触，应全程佩戴干净的无粉尘手套。
- 未用完的膜卷需及时用铝箔纸或密封袋包裹，放回原包装筒，注明开封日期，按照说明书储存条件保存，避免膜边缘受潮卷曲。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：

一、操作步骤

使用说明以 3 m× 30 cm (0.45 μm)规格为例

1. **新拆封的产品外保护膜多出一圈，展开至PVDF膜处于两层保护膜之间时方可进行后续操作，操作过程中避免过度拉伸或折叠，保持膜的平整状态。**

2. **标记尺寸：**根据实验需求（如试纸条用膜需5 mm× 5 cm，Western Blot需8 cm× 10 cm），用直尺在膜的非操作面轻划标记线（避免划伤膜表面）。

3. 精准切割：

横向切割（沿 30 cm 宽度方向）：将膜平铺于切割垫板，用灭菌刀片沿标记线垂直切割，单次切割行程需匀速，避免膜边缘毛边。

纵向切割（沿 3 m 长度方向）：如需窄条膜（如 1 cm 宽），可借助定制切割模具或固定导轨辅助切割，确保边缘整齐。

4. **膜的活化：**将裁切好的PVDF膜完全浸没在100%甲醇中。轻轻晃动或摇动放置10 s-60 s均可，直至膜从不透明变为半透明/均一灰色。此过程使膜由疏水性变为亲水性。

注：活化不充分会导致转印效率低和高背景问题。

5. **活化后处理：**将活化好的PVDF膜立即转移至转印缓冲液（如含有甲醇的Tris/Glycine缓冲液或CAPS缓冲液）中。在转印缓冲液中平衡至少1-3 min。同时平衡凝胶和滤纸。

6. **转印“三明治”组装：**按照转印装置（湿转槽或半干转印仪）的要求，在正极（阳极）一侧依次放置：海绵/垫片滤纸（浸透转印缓冲液）活化并平衡好的膜平衡好的凝胶滤纸（浸透转印缓冲液）海绵/垫片。

注：①确认凝胶与膜的相对方向：确保凝胶靠近阴极，PVDF膜靠近阳极。蛋白带负电，在电场作用下从凝胶（阴极侧）向膜（阳极侧）迁移。

②仔细移除各层之间的所有气泡（可用玻璃棒或滚筒轻轻滚压），气泡会阻碍蛋白转印。

7. **转印：**将组装好的“三明治”放入转印装置中。加入足量预冷的转印缓冲液（湿转）或确保接触良好（半干转）。根据目标蛋白分子量、凝胶浓度和转印装置，设置合适的恒定电流或恒定电压及转印时间。

注：①湿转条件：100 V，60-90 min或30 V，过夜（4℃）。

②半干转条件：恒流1 mA/cm² 膜面积，60-90 min。

③转印条件仅供参考，建议在4℃冷室或使用内置冷却装置进行转印，以减少热效应。

8. **转印后处理：**转印结束后，小心拆开“三明治”，取出膜。膜上应有预染蛋白Marker条带，用于确认转印成功和方向。将膜立即浸入适量的封闭缓冲液（如含5%脱脂奶粉或3-5% BSA的TBST或PBST）中，在摇床上室温封闭1 h或更长4℃过夜，以阻断膜上的非特异性结合位点。

9. **封闭后，进行后续的一抗孵育、洗涤、二抗孵育、洗涤及显色/检测步骤。**

二、结果判读：

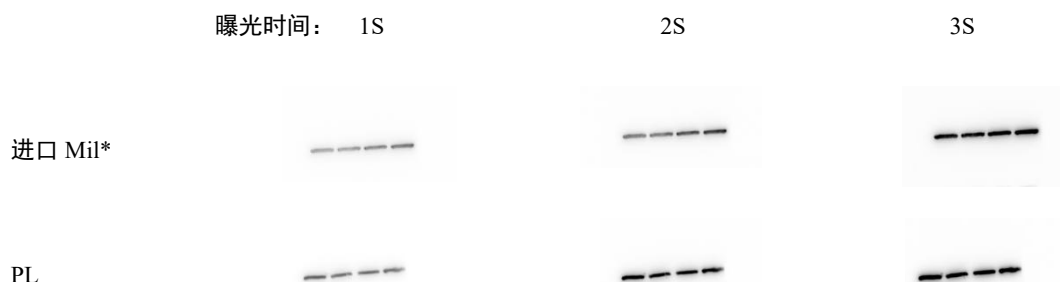


图1.β-Actin蛋白显影-PL和进口PVDF膜(0.22 μm)对比图

通过 Western Blot 实验，在相同条件下测试本产品和进口 Mil*PVDF 膜(0.22 μm)，不同曝光时间对应的β-Actin 蛋白条带显影效果，本产品显示的条带完整，蛋白含量与条带灰度对应度高，背景色低，且我司 PVDF 膜相较于进口竞品膜来说，转印带型好且清晰。

常见疑问与解答：

- 问：检测灵敏度低，目标条带显色浅？
答：可能原因有抗原/抗体结合效率低、膜吸附性能下降、显色剂失效；对膜进行预处理增强吸附；确保抗原/抗体活性和浓度合适；更换新鲜显色剂，并按说明书规范操作。
- 问：Western Blot中蛋白质转移效率低？
答：这可能是由于转移缓冲液配方错误、转移时间不足、凝胶与膜贴合不紧密等原因造成的，重新配制转移缓冲液，确保含20%甲醇；适当延长转移时间；组装转移装置时，排除凝胶与膜之间的气泡，确保紧密贴合。
- 问：膜上无信号？
答：使0.22 μm PVDF膜检测小分子蛋白（如<10 kDa）时转膜电流过高或时间过长，导致小分子蛋白穿过0.22 μm孔径；此情况下需要降低转膜电流或缩短时间，优先选择湿转法（缓冲液浸没膜，分子迁移更温和），或在膜下方垫一层0.45 μm膜作为阻挡层（仅适用于小分子检测）。
- 问：背景高，非特异性信号强？
答：使用0.22 μm PVDF膜出现此问题，可能原因是膜孔径小、表面积大，封闭不充分导致抗体非特异性结合，洗涤不彻底或抗体浓度过高；若目标分子为小分子蛋白，可改用3% BSA封闭液（减少与小分子的交叉反应）；降低抗体浓度如从1:1000降至1:2000，或增加洗涤次数（如洗膜4次×10 min），使用含0.1% Tween-20的高盐缓冲液（如1×TBST+0.5 M NaCl）；进行预吸附抗体步骤-将抗体与封闭液中的蛋白（如脱脂奶粉）预孵育1 h，减少抗体与膜的非特异性结合。使用0.45 μm PVDF膜出现此问题，则可尝试缩短封闭时间或降低抗体浓度。
- 问：Marker或特异性条带有气泡或条带不全？
答：膜和胶之间气泡未排净，转膜时排净膜和胶之间的气泡。
- 问：小分子抗原表位暴露不足，信号弱？
答：可能由于小分子蛋白空间构象复杂，表位被掩盖；或转膜后蛋白折叠导致表位隐藏。可尝试使用高亲和力单克隆抗体，或增加抗体孵育时间（如4℃过夜）；转膜后对膜进行抗原修复：用含0.1% SDS的缓冲液（如TBS）于室温振荡孵育10 min，破坏蛋白聚集，暴露表位（需预实验验证）；或采用化学发光增强试剂（如超敏型或特超敏型ECL我司产品货号：S81002/S81003），提高检测灵敏度，或改用荧光检测（近红外荧光抗体）降低背景干扰。
- 问：不同的蛋白质转移方法有什么区别？
答：

	湿转转印	半干转转印
转膜原理	凝胶和膜浸泡在大量缓冲液中，通过电场驱动蛋白转移	凝胶和膜夹在浸湿滤纸或转印垫片间，直接接触电极转印
夹心结构	海绵→滤纸→凝胶→膜→滤纸→海绵（浸泡在缓冲液中）	滤纸→凝胶→膜→滤纸（滤纸用缓冲液浸泡）
缓冲液用量	需 1-12 L 缓冲液，用量大	每个印迹膜仅需 0.5 L 左右，用量少
转膜时间	60 min 或更久时间长	7-45 min，时间快
典型连续缓冲液名称/成分	需手工组装组件，操作复杂。 Towbin 缓冲液，pH8.3 25 mM Tris, 192 mM Glycine	Bjerrum Shafer Nielsen 缓冲液，pH9.2 48 mM Tris, 39 mM Glycine
所需缓冲液系统	连续（单个缓冲器）	连续（单个缓冲器） 或不连续（3个缓冲区）



典型非连续缓冲液名称/成分	/	阳极缓冲液 I: 300 mM Tris, pH10.4 阳极缓冲液 II: 25 mM Tris, pH10.4 阴极缓冲液: 25 mM Tris, 40 mM 氨基己酸, pH9.4
温度控制	冰块或循环水冷却	/

● 问：NC膜和PVDF膜怎么选择？

答：

货号	P30009, P30010	P30011, P30012
名称	NC 膜	PVDF 膜
材质	硝酸纤维素膜	聚偏二氟乙烯膜
规格	6 cm× 9 cm/30 cm× 3 m	6 cm× 9 cm/30 cm× 3 m
孔径	0.45 μm/0.22 μm	0.45 μm/0.22 μm
灵敏度	高	高
甲醇活化	不需要	需要
亲疏水性	亲水性	疏水性
使用过程	操作简单，直接吸附蛋白	需要预湿润，前处理繁琐
应用范围	Western Blot、Southern Blot、Northern Blot	Western Blot、Southern Blot、Northern Blot、氨基酸或蛋白质分析
操作强度	较低（易脆，湿态下易撕裂）	较高（韧性强，耐磨损）
BSA 蛋白吸附量	0.22 μm: 120 μg/cm ² 0.45 μm: 50 μg/cm ²	0.22 μm: 328 μg/cm ² 0.45 μm: 245 μg/cm ²
不同孔径捕获蛋白大小	0.45 μm 孔径: >20 kDa 大分子蛋白; 0.22 μm 孔径: < 20kDa 小分子蛋白	

