

## 硝酸纤维素膜 (NC)

**N766354 N766340 N766351 N766329**

储存温度 室温保存。

### 产品介绍

NC 转印膜是一种硝酸纤维素微孔膜，用于从各种凝胶基质转移蛋白质。与 PVDF 膜相比，NC 膜属于亲水膜，无需预先做亲水处理，这种亲水膜有 0.45 $\mu$ m 和 0.22 $\mu$ m 两种孔径型号，能够结合广泛分子量的蛋白质。0.45 $\mu$ m 孔径适合大部分的蛋白，具有较高的检测灵敏度，0.22 $\mu$ m 孔径适合分子量小于 20kDa 的蛋白，能更好的吸附和保留小分子蛋白。阿拉丁的 PVDF 具有优异的蛋白质保留率、高物理强度和宽化学兼容性，使其较好的应用于免疫检测。

本产品可兼容多种染料，如丽春红(Ponceau-S red)、酰胺黑(Amido black)、CPTS、胶体金(Colloidal gold)、和印度墨水(India ink)。其中丽春红、CPTS 等染料染色后，染料可以被洗掉，膜可以用做进一步的分析用；而酰胺黑、印度墨水等染料是不可逆的，染色后膜就不能用于进一步的分析。

本硝酸纤维素膜适用于化学发光(如 ECL 等)、常规显色(如 DAB 、TMB)、染色、同位素和荧光等方法进行检测。

### 使用方法

#### 一、膜润湿

1. 将干膜在甲醇中润湿 10-20 秒,或者直到它从不透明的白色变成均匀的半透明灰色。
2. 将膜浸入超纯水中 1-2 分钟,以置换醇。
3. 在转移缓冲液中平衡膜 2-3 分钟或直到可以使用为止。

注意：一旦薄膜被弄湿,就不要让它变干。它可以保留在缓冲液中直到蛋白质转移。如果薄膜变干(变成不透明的白色)即使是部分,也必须再次将其润湿(步骤 1-3)。

#### 二、半干式转移

1. 将蛋白质混合物分散在聚丙烯酰胺凝胶上。
2. 将凝胶浸入转移缓冲液中,并使其平衡 10-15 分钟。
3. 根据制造商对所用转移装置的说明组装转移堆。

注意：为了确保均匀转移,请小心地滚动一个干净的移液管或印迹滚轮覆盖在堆叠中的每一层的表面上。不适用过大的压力,因为这可能会损坏凝胶和膜。

4. 根据转移设备制造商的说明转移蛋白质。
5. 去除转移系统上的印迹,并在超纯水中短暂冲洗膜去除凝胶碎屑。印迹可以风干储存,也可以立即使用用于免疫检测步骤。

注意：免疫检测前干燥印迹可能会增强某些蛋白质的结合并减少背景色。

### 三、标准免疫检测

1. 如果印迹已经干燥, 则将其在醇甲醇中重新润湿 15 秒或直到它从不透明的白色变为半透明的灰色。
2. 在超纯水中冲洗印迹 1 分钟。
3. 将印迹置于封闭缓冲液中, 在温和搅拌下孵育 1 小时。商品化抗体稀释液、洗涤缓冲液或封闭缓冲液中稀释一抗。
4. 将印迹置于稀释的一抗溶液中, 并在温和搅拌下室温孵育 1 小时(或 4°C 过夜孵育)。
5. 用洗涤缓冲液(添加 Tween-20 表面活性剂的缓冲液(TBST 或 PBST)3-5 次, 每次 5 分钟。准备商品化抗体稀释液、洗涤或封闭缓冲液稀释二抗。
6. 将印迹置于稀释的酶标记二抗溶液中, 室温孵育 1 小时。
7. 用洗涤缓冲液洗涤印迹 3-5 次, 每次 5 分钟。
8. 将印迹膜放入干净的容器中并加入适当的检测试剂。
9. 根据检测试剂制造商的说明, 孵育 1-5 分钟。
10. 对于 HRP 或 AP 化学发光试剂, 将印迹暴露于 x 射线胶片或获取图像使用数字成像系统。对于显色检测, 添加试剂并等待信号出现。

### 注意事项

1. 操作薄膜时, 务必戴上手套, 以免留下指纹。
2. 使用钝性钳子防止膜损伤。
3. 在切割或处理过程中, 将保护纸(淡蓝纸)与薄膜一起保存, 但润湿膜时保护纸应丢弃。
4. 小心搬运, 避免薄膜表面出现划痕, 不要折叠薄膜。
5. 亲水性 NC 转印膜无需提前润湿。一旦膜被润湿, 它就会从不透明到半透明。
6. 蛋白质转移后, 用超纯水清洗印迹, 以消除残留杂物。
7. 印迹膜可以风干并在 4°C 下储存数月(以备日后使用), 也可以立即使用。