



WB 常见问题分析

问题	可能原因	解决方法
背景值高	膜没有膜没有均匀浸润	PVDF 膜转膜前用 100% 甲醛将膜完全浸湿，转膜前用缓冲液浸泡 10min
	膜或者缓冲液污染	拿取膜与吸水纸时要戴手套，更换新鲜转膜缓冲液
	封闭不充分	更换封闭液或延长封闭时间
	抗体与封闭液出现交叉反应	检测一抗、二抗与封闭液是否有交叉反应
	抗体浓度过高	做预实验检测确定一抗、二抗的最佳工作浓度
杂带多	抗一抗不是唯一特异的	制备单克隆抗体或者重新选取合成抗原多肽的位点制备抗体
	二抗出现非特异性结合	设立不加一抗，只加二抗的平行对照来检测二抗是否有非特异性结合
	不同的剪接体	选取抗原特异区域进行免疫
无信号或信号弱	抗体不适合于 WB	设置阳性对照和内参蛋白
	抗体浓度太低	加大抗体浓度
	抗体保存不当	分装长期保存在 -70°C
	抗原不充足	增加蛋白上样量
	膜漂洗过度	减少漂洗的时间和次数
	转膜不充分	延长转膜时间或增大转膜电压

