

## Western Blot—常见问题解答

### 1. 采用PeperoTech的Western Blot方案时，免疫染色步骤需要花费多长时间？

该Western Blot方案中，从蛋白转膜到条带显色共约需6个小时。

### 2. 需用什么类型的蛋白分子量 marker ？

PeperoTech 在自己的实验室做 Western Blot 实验时，均使用 Novex<sup>®</sup> Sharp 预染蛋白 marker，当然该蛋白 marker 不是一定要用。用非 ECL 法显色时，一定要用预染的分子量 marker。

### 3. Western Blot一定要做阳性对照吗？

是的。为了准确了解目的蛋白在 Western Blot 中的条带位置，您必须在胶中设置阳性对照。当用 PeperoTech 的抗体做 Western Blot 时，我们建议您用 PeperoTech 公司生产的相应重组蛋白，即该抗体的免疫原作为阳性对照。

### 4. 膜在孵育期间一定要振荡吗？

是的，在孵育期间对膜进行振荡十分必要。如果不振荡，抗体、封闭液和洗液可能无法均匀地作用于整个膜，从而导致膜上出现斑点或斑块状背景，同时也会影响抗体对蛋白的检测。

### 5. 蛋白转膜时，一定要用滤纸吗？

是的，蛋白转膜时必须使用滤纸作为屏障。滤纸可避免胶或膜因与海绵直接接触而发生损坏。滤纸对转膜的电流没有影响。

### 6. 必须用PeperoTech的Western Blot方案中推荐的显色系统吗？

不一定。Western Blot 实验可用的显色系统很多，但要注意，显色系统必须与所用的酶相配。PeperoTech 使用碱性磷酸酶标记的二抗，NBT/BCIP 因是碱性磷酸酶的底物，所以用于我们 Western Blot 实验中的显色。

### 7. 为什么使用不同批次的同一种抗体时，Western Blot实验的结果强弱有别？

这是多克隆抗体本身的特性导致的，不同批次间可能会有差异。

### 8. 在Western Blot实验中，是否可以用酶标一抗替代一抗/二抗检测系统？

可以的，但要注意，与仅用酶标一抗相比，用酶标记的二抗来识别抗原特异性的一抗，即一抗/二抗检测系统，对Western Blot的信号有放大作用。