

# 重组Anti-HIF-1 alpha抗体[EPR16897] (ab179483)

## 种属、应用和参考稀释度

(更多信息请参考Abcam官网, 并以Abcam官网为准)

	WB	ICC/IF <sup>②</sup>	IP	CHIC/CUT&RUN-seq	CHIP-seq
Human	✓✓ (1/1000)	✓✓ (1/500)	✓✓ (1/30)	✓✓ (5 µg)	✓✓ (8 µg for 10 <sup>7</sup> cells)
Mouse	✓✓ (1/1000)	✓	✓	✓	✓
Rat	✓✓ (1/1000)	✓	✓	✓	✓
Cow, Ferret, Primates, Rabbit, Sheep	●	●	●	●	●

✓✓<sup>①</sup>已验证    ✓<sup>①</sup>预期可反应    ●预测可反应    ✗不推荐

注: ①产品质保范围包括已验证和预期可反应。② ICC/IF仅指细胞样本的免疫荧光/免疫化学检测。

## 免疫印迹 (WB) 实验指南

- **HIF-1 alpha 在大多数正常组织中不表达, 如脾脏。** (PMID: 10934146, PMID:12128120, PMID:24835245, PMID:116889469, PMID:20217131)
- HIF-1 alpha 仅在含氧量低于 5% 的环境中稳定存在; 在常氧环境中, HIF-1 alpha 半衰期很短且可能在很短时间内发生**核质降解**。
- 常氧状态下, HIF-1 alpha 表达于细胞质中。缺氧状态下, HIF-1 alpha 表达于细胞核中。
- 推荐用 DMOG、DFO、CoCl<sub>2</sub> 等试剂处理样本, **诱导**激活维持 HIF-1 alpha 的表达。缺氧的诱导条件参考图 1。
- HIF-1 alpha 诱导激活瞬时表达后, 非常容易**降解**, 推荐用 **MG132** 处理样本 (PMID:15836611)。并在裂解液中添加**复合蛋白酶抑制剂**。样本制备过程全程处于冰上, 制备后马上进行 WB 实验, 防止冻存导致蛋白降解。
- 由于 HIF-1 alpha 存在多种不同形式, WB 实验中可能检测到多条带或实际检测到的条带分子量与预测值不同。为防止丢失目的信号, **请不要裁膜**。不同形式的 HIF-1 alpha 分子量包括 40-80 kDa (降解的 HIF-1 alpha), 110-130 kDa (翻译后修饰的 HIF-1 alpha), 200 kDa (带有 HIF-1 beta 的异源二聚体)。

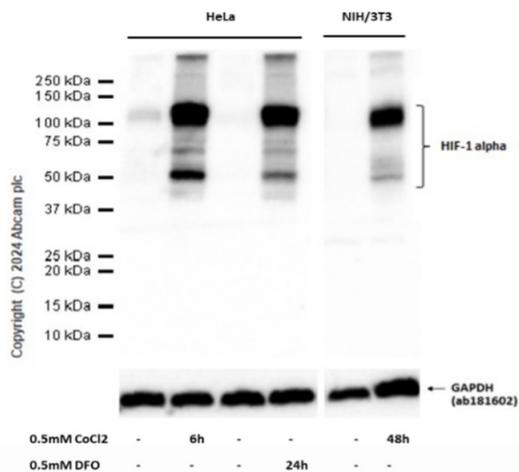


图 1. ab179483 检测 HIF-1 α蛋白

Western blot 结果分析:

HIF-1 α在常氧条件下不断合成但迅速降解，而氧浓度降低 (CoCl<sub>2</sub> 或者 DFO 等药物可诱导缺氧) 有助于 HIF-1 α稳定 (PMID:15104534)。因此，在缺氧条件下看到 HIF-1 α 信号的增强且伴随部分降解条带的检出。

实验室诱导条件参考如下:

将细胞培养到 90% 密度后，去除培养基，加入包含 0.5 mM CoCl<sub>2</sub> 或者 0.5 mM DFO 等缺氧诱导药物的新培养基，继续培养至特定时间 (如图中所示处理 6 小时或 24 小时或 48 小时)，收集细胞并制备裂解液。建议设置药物浓度梯度及诱导时间梯度。

## 免疫印迹 (WB) 实验疑难解答

### 常见问题

### 原因及优化方案

#### 无信号

低氧诱导HIF-1 α蛋白表达,并用MG-132处理样本,抑制HIF-1 α蛋白降解。如用400 μM CoCl<sub>2</sub>和20 μM MG-132 (ab141003) 诱导 C6细胞4 小时,可检测到HIF-1 α蛋白。

建议使用新鲜制备的裂解液,并增加样本上样量,例如上样50μg/泳道总蛋白。

增加一抗或二抗抗体使用量。可尝试降低一抗稀释度至1/500,推荐使用abcam的二抗 ab97051(1/2000-1/20000)或者ab205718(1/2000-1/20000)以提高信号强度。

对孵育RIPA以后的样本裂解液进行超声破碎处理,以富集更多蛋白。按照超声破碎仪仪器厂商的推荐设置超声功率、时间和次数,例如Abcam常用设置为:超声10-15次,功率40KW,每次超声3秒,间隔10秒。

不要裁膜,请尽量保留全膜进行实验。

强烈建议转膜完成后使用丽春红染色,确定转膜是否成功。

#### 高背景

请使用新鲜制备的抗体工作液,不推荐重复利用抗体。

尝试更换封闭液,例如可选择5%脱脂奶粉/TBST。

#### 条带问题

HIF-1 α极易发生降解,可能会检测到降解条带。

有可能会检测到翻译后修饰或者HIF-1 beta 的异源二聚体。

更多疑难解答详见  
[www.abcam.cn](http://www.abcam.cn)或微信  
 扫描下方二维码

