

重组Anti-LC3B抗体[EPR18709] - Autophagosome Marker (ab192890)

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	IHC-P	ICC/IF ^②	IP
Human	✓✓ (1/2000)	✓✓ (0.1-1µg/mL, 1/1000-1/10000)	✓✓ (1µg/mL, 1/1000)	✗
Mouse	✓✓ (1/2000)	✓	✓	✗
Rat	✓✓ (1/2000)	✓	✓	✗

✓✓^①已验证 ✓^①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。

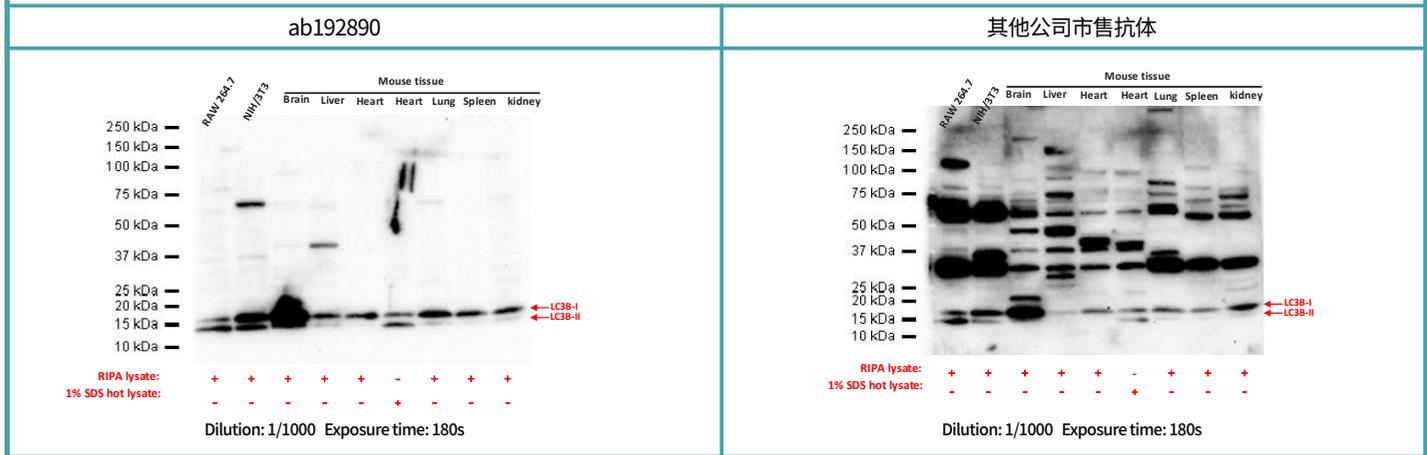
免疫印迹(WB)实验指南

- LC3B 是一个广泛使用的自噬标志物,在**大脑**中含量非常高,可作为**阳性对照**。
- LC3B-II / LC3B-I 比例与**细胞自噬水平**相关。**正常组织** (如健康,年轻组织) 中的自噬水平较低,主要在胞浆中表达可溶性 **LC3B-I 前体**形式。当发生**自噬时** (如疾病,衰老等状态),胞浆 **LC3B-I** 表达水平**升高**,并逐步转变为膜结合形式 **LC3B-II**。因此,如图 1 所示,不同样本中,LC3B-I 和 LC3B-II 的比例可能有所不同。
- 如图 1 所示,采用更强烈的裂解方式,如 **1% SDS hot 裂解法**,可提高 **LC3B-II** 信号强度,这可能与 LC3B-II 的膜结合形式相关,该结果与文献 (PMID: 19200884) 描述相符。

图 1. ab192890 检测不同组织和细胞中 LC3B 蛋白的表达

Western blot 结果分析:

ab192890 检测 LC3B-I 和 LC3B-II 的表达情况与同靶点的其他市售抗体一致,不同样本中 LC3B-I 和 LC3B-II 的含量有所不同,表现为单带或双带。裂解方式对 LC3B-II 的释放影响较大,用**更强烈的 1% SDS hot 裂解法**制备裂解液,可提高 LC3B-II 的信号强度。



- LC3B 可通过 Bafilomycin A1 / Rapamycin / Hydroxychloroquine / Chloroquine **诱导**上调,如图 2 所示。



图 2. ab192890 检测 Chloroquine 诱导的野生型 HepG2 和 LC3B 敲除的 HepG2 细胞中 LC3B 的表达

Western blot 结果分析:

1. 用 50 µM Chloroquine 诱导野生型 HepG2 16h 后, LC3B-I 和 LC3B-II 信号强度明显升高。
2. ab192890 在非诱导和诱导的 HepG2 LC3B 敲除细胞中未检测到 LC3B 信号。

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	<p>确认样本中LC3B蛋白表达水平,可选择大脑组织裂解液作为阳性对照。</p> <p>添加复合蛋白酶抑制剂抑制剂,以避免靶蛋白降解。</p> <p>增加样本裂解液上样量,例如上样50μg/泳道总蛋白。</p> <p>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。超声时将样品置于冰上。</p> <p>增加一抗使用量,可尝试降低一抗稀释度至1/500。</p> <p>增加二抗使用量,推荐使用ab97051 或ab205718 (二抗稀释度1/2000-1/20,000)。</p> <p>对于分子量较小的靶标蛋白,请使用较高浓度的分离胶进行电泳,例如15%的SDS-PAGE分离胶。</p> <p>对于分子量较小的靶标蛋白,建议使用0.22μm的PVDF膜。</p> <p>强烈建议转膜完成后使用丽春红染色,确定转膜是否成功。</p> <p>增加曝光时间,可适当延长曝光时间至3分钟或更长时间。</p> <p>选择敏感度为飞克级别的ECL底物。</p>
条带问题	<p>样本中LC3B会以LC3B-I和/或LC3B-II形式存在,不同样本中条带分子量和条带数目可能不同。</p>

更多疑难解答详见
www.abcam.cn或微信
扫描下方二维码

