

# 重组Anti-PD-L1抗体[EPR19759] (ab213524)

## 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	IP	ICC/IF <sup>②</sup>	Flow Cyt(Intra) <sup>③</sup>	Flow Cyt
Human	✓✓✓ (1/1000)	✓✓✓ (1/250)	✓✓✓ (1/30)	✓✓✓ (1/500)	✓	✗
Mouse	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Recombinant full-length protein - Human	✓✓✓ (1/1000)	✗	✗	✗	✗	✗
Transfected cell line - Chinese hamster	✗	✗	✗	✓✓✓ (1/500)	✓✓✓ (1/500)	✗

✓✓✓<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。②ICC/IF仅指细胞样本的免疫荧光/免疫化学检测。③Flow Cyt(Intra)是指抗体识别的表位在细胞内, 应在一抗抗体孵育之前进行细胞穿透处理。

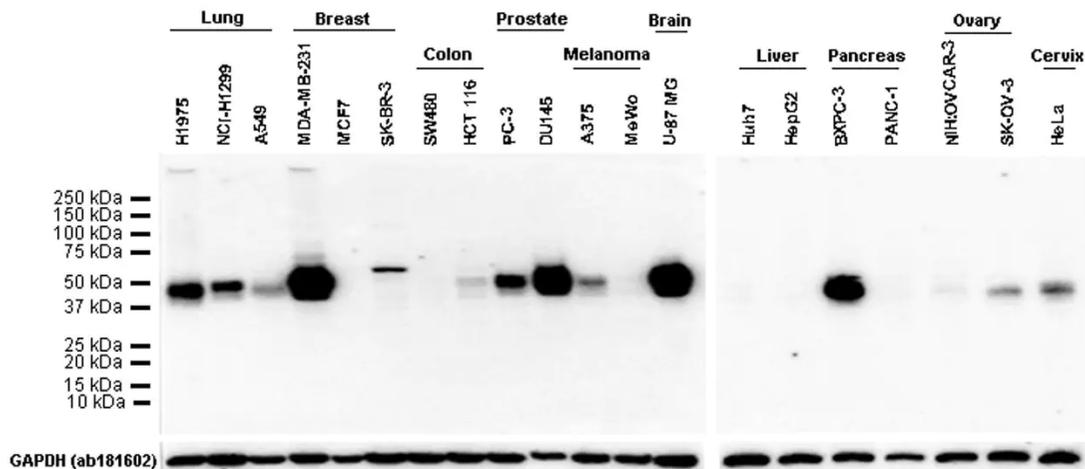
## 免疫印迹(WB)实验指南

- 尽管PD-L1 mRNA存在于多种组织中, 但只有少数健康组织表达PD-L1蛋白 (PMID: 35955729), 如健康胎盘的合体滋养层 (PMID: 24581729), 而乳腺、小肠和大肠、胰腺、唾液腺、胆囊、脑和胃等健康组织均未检测到PD-L1蛋白 (PMID: 27362903)。
- PD-L1在不同的肿瘤细胞中表达差异很大 (如图1所示)。如在MDA-MB-231, U-87 MG, PC-3等PD-L1高表达细胞系中, ab213524可检测到强信号; 而当检测A549, A375, HeLa, SKOV-3等PD-L1表达相对较弱的细胞系时, 需优化WB检测实验方案, 请参考“原因及优化方案” (如图2所示)。
- 可通过干扰素 (IFN) 刺激上调表达PD-L1 (PMID: 35955729)。因此, 可对PD-L1低表达的样本进行干扰素诱导, 例如, 使用100ng/ml干扰素 $\gamma$ 处理A549细胞48小时。建议通过q-PCR检测PD-L1的mRNA水平来判断诱导效果。
- 由于PD-L1蛋白存在多种翻译后修饰, 包括多位点糖基化修饰, 所以实际检测到的条带大小可能在30-60kDa之间, 与理论值20-33kDa有所区别。

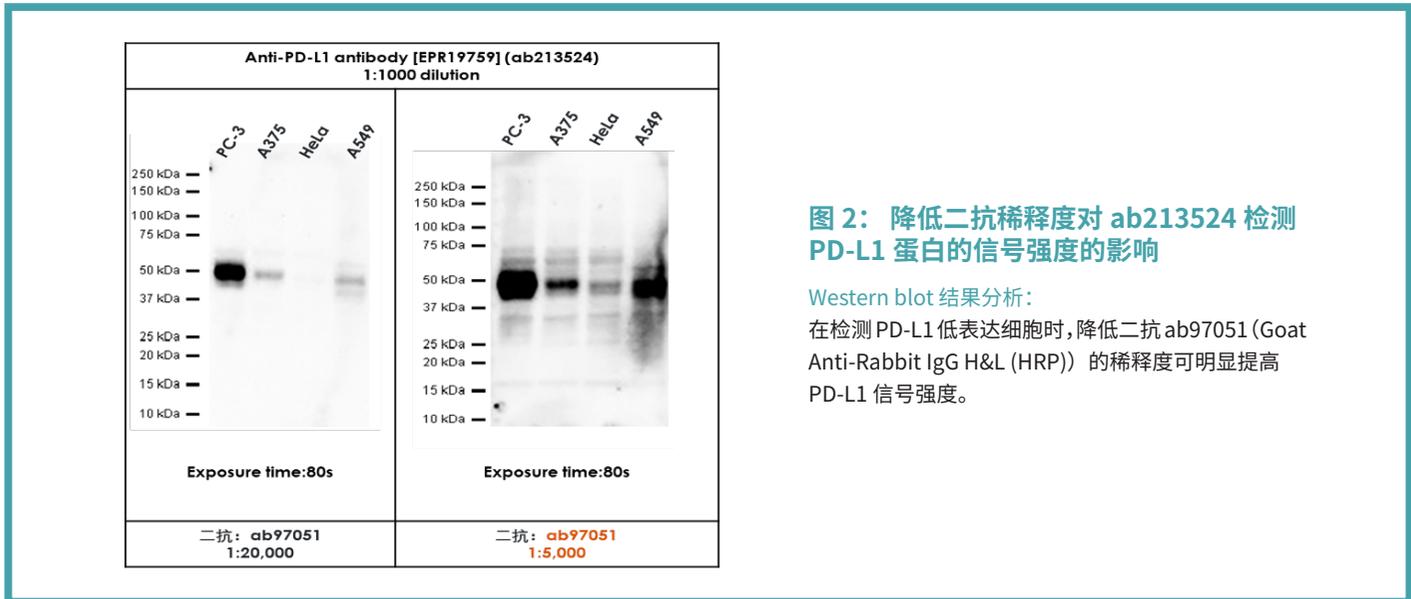
图1: ab213524检测不同细胞系中PD-L1蛋白的表达

Western blot 结果分析:

PD-L1在不同的肿瘤细胞中表达差异很大。



Anti-PD-L1 antibody [EPR19759] (ab213524)  
Dilution: 1/1000    Exposure time: 180s



## 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

PD-L1在不同样本中表达差异大,请确认待检组织中PD-L1的蛋白表达水平,低表达的样本建议选择更高灵敏度的ab228415。

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;请根据实验室仪器条件调整设置。

适当增加样本裂解液上样量,例如上样50μg/泳道总蛋白。

增加一抗使用量,可尝试降低一抗稀释度至1/500。

增加二抗使用量,推荐使用ab97051或ab205718(二抗稀释度1/2000-1/20/000)。

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。

增加曝光时间,可适当延长曝光时间至3分钟或更长时间。

选择敏感度为飞克级别的ECL底物。

#### 条带问题

组织样本相较细胞样本更加复杂,WB检测可能会有多带现象。

由于PD-L1蛋白存在多种翻译后修饰,包括多位点糖基化修饰,所以实际检测到的条带可能是30-60kDa之间的弥散条带。

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

