

# 重组 Anti-GSDMD 抗体[EPR20859] (ab219800)

## 特异性

该抗体可以 WB 实验可检测全长 GSDMD，及刺激后产生的 GSDMD-N 端片段。

正常全脑裂解液中 GSDMD 的表达水平很低，几乎检测不到(PMID: 32671214, PMID: 34975487)。

此外，文献报道，还有很多正常组织（如肺、肾、肠粘膜组织等， PMID: 32671214, PMID: 34975487， PMID: 35941120， PMID: 34787801， PMID: 36266722）中 GSDMD 的表达水平较低，WB 实验检测时可能会出现无信号或弱信号的现象。

## 推荐的阳性对照

- **WB:** 野生型小鼠和大鼠肝脏组。
- **IHC-P:**野生型小鼠的小。
- **Flow Cyt (intra):** RAW 264.7 细胞。
- **IP:** RAW 264.7 全细胞裂解液。

## 更多说明

- GSDMD 广泛表达于不同的组织和免疫细胞，包括肠上皮细胞(IECs)和不同的白细胞亚群(PMID: 35774778)，但不同组织和细胞中，GSDMD 表达水平可能差异很大，建议设置阳性对照。
- GSDMD 需要响应典型和非典型炎症小体激活物，被炎症蛋白酶 Caspase-1/4/5/11 剪切形成 GSDMD-N。如果需要检测 GSDMD-N 端片段，样本需经过处理（eg：用 500ng/ml BsaK 和 500ng/ml 炭疽保护抗原处理 iBMM (小鼠永生化骨髓源性巨噬细胞)2 小时后，浓缩的细胞上清； PMID: 32109412)，即使是同样的细胞，不一样的细胞状态仍然需要摸索诱导条件，建议尝试做试剂浓度和时间梯度诱导。
- 建议使用确定高表达的样本作为阳性对照，以帮助判断实验操作、试剂和诱导条件是否合适。
- 推荐查看 [GSDMD 靶标贴士](#)。

## 免疫印记 (WB) 实验的注意事项：

- WB 检测 **GSDMD** 低表达样本（如**脑、肺、肾、肠粘膜组织**等，PMID: 32671214, PMID: 34975487, PMID: 35941120, PMID: 34787801, PMID: 36266722）时，我们建议**增加样本裂解液上样量、增加抗体使用量、增加曝光时间**和选择**高敏或超高敏底物**等。
- WB 检测样本无信号或信号弱时，可适当**延长曝光时间至 3 分钟或更长时间**。
- 建议增加**阳性对照**，例**小鼠肝脏组织**，以确认实验体系没有问题。
- **组织样本**相较细胞样本更加复杂，WB 检测可能会有**杂带现象**。
- **GSDMD** 全长预测分子量约 **53kDa**，剪切体 GSDMD-N 分子量约 **31 kDa**，剪切体 GSDMD-C 分子量约 **22 kDa**，caspase-3 剪切 GSDMD Asp88 后产生的约 **43 kDa** 的中间体(PMID: 30902848, PMID: 28392147, PMID: 30135078)。因此，WB 实验有可能检测到**多条条带**。
- **不同来源**的同种细胞系或者**传代次数较多**的同一类型细胞系，WB 检测时结果可能不完全一致，可能会有**多带现象**。

### 免疫组化（IHC-P）实验的注意事项：

- 推荐使用 pH 9.0 Tris/EDTA 缓冲液进行热修复。
- 推荐一抗 4°C 过夜孵育。
- 推荐使用 HRP polymer 偶联的二抗，以更好地放大信号。
- 建议增加**阳性对照**，例**小鼠小肠**（小肠绒毛染色更强），以确认实验体系没有问题。
- 观察切片染色结果时，请选择组织切片中 **GSDMD** 表达丰富的细胞区域观察。**GSDMD** 在食管基底细胞以及胃的峡部/颈部，小窝和腺体中表达；在分化细胞中优先表达。