

重组Anti-IL-1 beta抗体[EPR23851-127] (ab254360)

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)

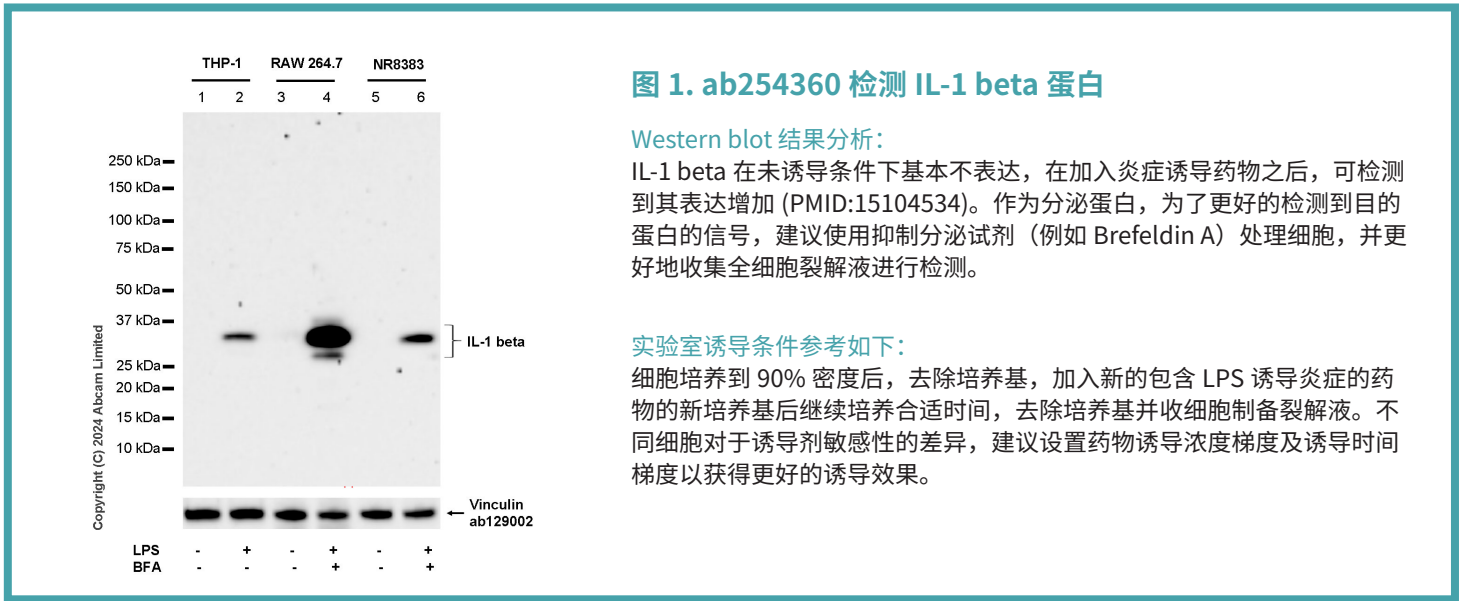
	WB	IHC-P	ICC/IF ^②	Flow Cyt(Intra)	IP
Human	✓✓ (1/1000)	✗	✗	✓✓ (1/50)	✗
Mouse	✓✓ (1/1000)	✗	✓✓ (1/50)	✓✓ (1/50)	✗
Rat	✓✓ (1/1000)	✗	✗	✓✓ (1/50)	✗

✓✓^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

- **IL-1 β**在正常条件下不表达, 它仅在炎症信号下被**诱导并分泌**。无论是 IL-1 beta 前体还是成熟体, 可能都需要刺激才能检测到 (PMID: 22019906)。例如, 当使用 ab254360 时, 在未诱导的 THP-1、RAW264.7 以及 NR8383 细胞中未检测到信号, 在经过 LPS 和 BFA 处理后可以检测到 IL-1 beta 阳性信号。IL-1 beta 在**健康组织和建模不成功的组织**可能**检测不到**, 请选择合适的实验样本作为阳性对照, 以确认实验体系没有问题。如图 1 所示。
- 产品说明书或者文献提供的诱导条件仅供参考。若需检测不同样本中 IL-1 beta, 请先进行诱导试剂浓度和诱导时长的摸索优化, 获得**最适诱导条件**的情况下再进行正式检测。此外, **刺激的强度和类型影响 IL-1 beta 的剪切和分泌, 并且不同的产品其要求的刺激强度也可能不同**。建议参考具体产品说明书。另外可以选择多个产品一起验证诱导条件, 或者用同一通路靶点一起检测, 确保诱导条件是合适的。
- IL-1 beta 在**不同组织细胞**中的表达不同, 有些样本可能会出现**弱表达**或**无表达**的情况。
- IL-1 beta 是分泌型蛋白, 建议使用**抑制分泌试剂 (例如 Brefeldin A)** 处理细胞, 抑制 IL-1 beta 分泌到细胞外, 再检测全细胞裂解液, 如图 1 所示。
- 为了保持实验的成功性和可重复性, 请注意待检测**细胞培养密度**的一致性。以 THP-1 来源的巨噬细胞为例, 由于群体感应的影响, 偏低或过高的细胞密度都会影响包括 IL-1 beta 在内的细胞因子分泌 (PMID: 36969194)。
- IL-1 beta 的前体 pro-IL-1 beta 在 **31 kDa** 左右, 刺激后约 266 个氨基酸的 pro-IL-1 beta 前体被切割成约 153 个氨基酸的 IL-1 beta 成熟形式, 可能会检测到蛋白水解后的约 **28 kDa** 和 **17.5kDa** 的 cleaved IL-1 beta (PMID: 8446594, 19559631)。



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

确认样本中IL-1 β 的蛋白表达水平, IL-1 β 在正常条件下不表达。

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; 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50 μ g/泳道总蛋白。

增加一抗或二抗抗体使用量, 推荐使用二抗ab97051 或ab205718 (二抗稀释度1/2000-1/20000)。

不要裁膜, 请尽量保留全膜进行实验。或至少保留10-70 kDa范围内的膜进行实验。

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。

对于分子量较小的靶标蛋白, 建议使用0.22 μ m的PVDF膜。

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

IL-1 beta有前体、剪切体和成熟体等多种存在形式, 因此可能会出现多带现象。(PMID: 8446594, 19559631)

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。

更多疑难解答详见
www.abcam.cn或微信
扫描下方二维码

