

# 重组Anti-NLRP3抗体[EPR23094-1] (ab263899)

## 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)

	IHC-P	IP	Flow Cyt (Intra)	WB	I-ELISA <sup>②</sup>	ICC/IF <sup>③</sup>
Human	✗	✓✓ (1/30)	✓✓ (1/50)	✓✓ (1/1000)	✓	✗
Mouse	✗	✓✓ (1/30)	✓	✓✓ (1/1000)	✓	✗
Rat	✗	✓	✓	✓✓ (1/1000)	✓	✗
Recombinant full length protein	✗	✗	✗	✗	✓✓	✗

✓✓<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。②I-ELISA是指间接ELISA(Indirect ELISA)。③ICC/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

- NLRP3 与炎症相关, 在**正常组织中表达量低** (PMID: 33538177, PMID: 25524927, PMID: 20688930, PMID: 35676979, PMID: 31923221, PMID: 24166187), 在大多数非病变组织样本中检测不到信号或信号很弱, 此外, Abcam 内部检测了小鼠、大鼠多种常见健康组织样本, 仅在健康脾脏组织中检测到很强信号。
- NLRP3 具有细胞类型依赖性, 主要表达在**巨噬细胞**如 THP-1, Raw 264.7, J774A.1 中, 在其他类型细胞表达量低或无表达。
- 可通过**感染、应激、炎症诱导剂等**刺激炎症反应, 上调 NLRP3 表达量 (PMID: 21884174)。注意, **长时间**的炎症诱导可能会触发调节机制**抑制 NLRP3 激活**, 建议做**诱导剂浓度梯度和时间梯度**实验, 确认最佳诱导条件。如图 1 所示。
- NLRP3 的预测分子量约 **118 kDa**, 有些样本中也可检测到 **75 kD** 左右的异构体 (PMID: 26939933, 30315268)。

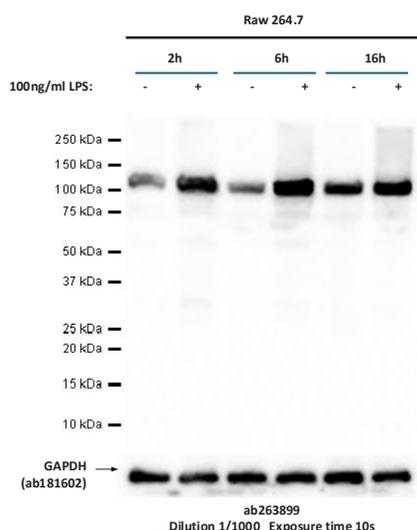


图 1. ab263899 检测 NLRP3 蛋白

Western blot 结果分析:

ab263899 检测到 LPS (Lipopolysaccharide) 刺激 Raw264.7 细胞后的 NLRP3 上调表达, 注意, 当诱导时间延长至 16h 后, 因长时间 LPS 刺激可诱导细胞的反馈调节 (PMID: 26412089), 诱导效果不明显。建议设置不同的诱导时间梯度及药物浓度梯度以获得最佳诱导效果。

实验室诱导条件参考如下:

Raw264.7 细胞培养到约 90% 密度, 换为含 100ng/ml LPS 的培养基或不添加 LPS 的培养基 (对照) 继续培养对应的诱导时间, 收集诱导后的细胞用于 NLRP3 蛋白的检测。

注意:

由于巨噬细胞培养较长时间, 较易分化导致内在蛋白表达可能发生变化。

## 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

NLRP3在绝大多数正常组织中表达量低, 请确认待检组织中NLRP3的表达水平, 可选择脾脏组织或巨噬细胞作为阳性对照。

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。

增加样本裂解液上样量, 例如上样50 $\mu$ g/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1/2000-1/20000)。

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

NLRP3存在异构体, 可能会检测到多条带。建议可通过查阅相关样本的文献或使用KO/KD等样本验证条带特异性。

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

