

重组Anti-iNOS抗体[RM1017] (ab283655)

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)

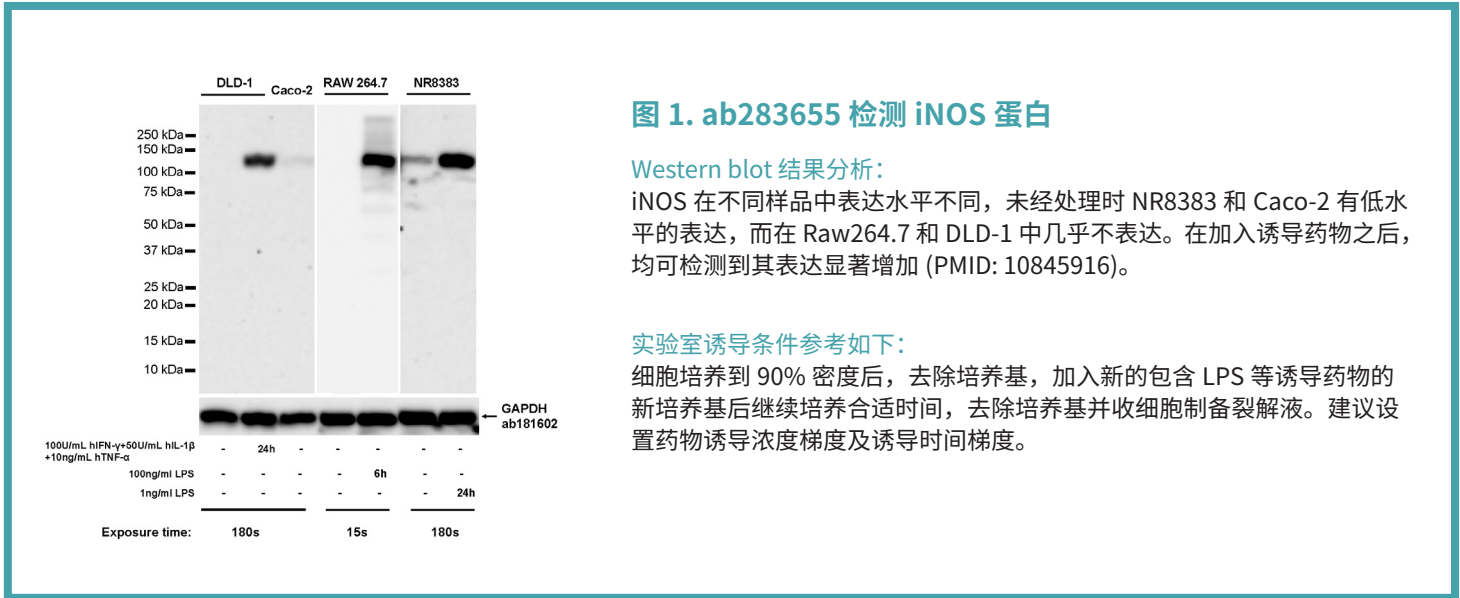
	IHC-P	IP	Flow Cyt (Intra)	WB	I-ELISA ^②	ICC/IF ^③	IHC-Fr
Human	✓✓ (1/2000)	✓✓ (1/30)	✓✓ (1/600)	✓✓ (1/1000)	✓	✗	✗
Mouse	✗	✓✓ (1/30)	✓✓ (1/600)	✓✓ (1/1000)	✓	✓✓ (1/50)	✗
Rat	✗	✓	✓	✓✓ (1/1000)	✓	✓	✗
Recombinant fragment - Human	✗	✗	✗	✗	✓✓	✗	✗

✓✓^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 I-ELISA是指间接ELISA(Indirect ELISA)。③ 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

- iNOS 催化产生一氧化氮 (NO)，一氧化氮是一种信使分子，在全身有不同的功能。iNOS 在**肝脏、视网膜、骨细胞和肺的气道上皮细胞**中表达，在血小板中不表达。iNOS 定位于细胞质。
- iNOS 在正常组织或细胞中表达丰度差异较大，并可通过诱导剂处理使其表达量增加。例如在正常**大脑中不表达**，但炎症、感染性或其他损伤后，在大脑中 iNOS 可被**诱导表达** (PMID: 11138926, PMID: 16156895, PMID: 10322315)。
- 内毒素、细胞因子、IFNG/ IFN- γ 能与细菌脂多糖 (LPS)、TNF 或 IL1 β / 白细胞介素 -1 β 协同作用也可**诱导** iNOS 的表达。如图 1 所示 LPS 处理 RAW 264.7 和 NR8383 细胞可诱导 iNOS 表达。100 U/mL hIFN- γ (Human Interferon- γ)、50 U/mL hIL-1 β (Human Interleukin-1 β) 和 10ng/mL hTNF- α (Human Tumor Necrosis Factor- α) 共同处理 DLD-1 细胞也可诱导 iNOS 表达。若不确认待检样本 iNOS 蛋白表达情况，建议设置已知**高表达样本**作为**阳性对照**如 LPS 处理 RAW 264.7，以确保实验操作和试剂没有问题。



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

若不确认待检样本 iNOS 蛋白表达情况, 建议设置已知高表达样本作为阳性对照如 LPS 处理 RAW 264.7, 以确保实验操作和试剂没有问题。

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。超声时请将样品置于冰上操作。

建议使用新鲜制备的裂解液, 并且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 ab97051 或 ab205718 (二抗稀释度 1/2000-1/20000)。

对于分子量较大的蛋白, 建议转膜时在转膜缓冲液中 SDS 终浓度为 0.1%, 转膜缓冲液中甲醇终浓度降低至 10%, 并推荐使用 0.45 μ m 的 PVDF 膜。

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。

更多疑难解答详见
www.abcam.cn 或微信
扫描下方二维码

