

重组 Anti-IL-1 beta 抗体[RM1009] (ab283818)

特异性

- 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)。
- 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。

说明

- 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。
- 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 成熟形式的，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）
- 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 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，推荐使用**阳性对照**，以确认实验体系没有问题。

推荐的阳性对照

- **WB:** U-87 MG 全细胞裂解液; PMA、LPS 和 BFA 处理的 U-937 全细胞裂解液; LPS 和 BFA 处理的 RAW 264.7 或者 NR8383 全细胞裂解液。
- **IHC-P:** 小鼠结肠癌组织; LPS 和 BFA 处理的 RAW 264.7 细胞; LPS 和 BFA 处理的小鼠肺组织。

推荐的阴性对照

- **WB:** 未处理的 U-937 和 RAW 264.7 全细胞裂解液;
- **IHC-P:** 小鼠结肠组织; 小鼠脾脏组织;

免疫印记 (WB) 实验的注意事项:

- WB 检测 IL-1 beta 低表达样本时, 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 LPS 和 BFA 处理的 RAW 264.7 细胞, 以确认实验体系没有问题。
- 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)

免疫组化 (IHC-P) 实验的注意事项:

- 样本固定时间取决于组织块大小与组织类型, 但对于大多数样本, 4%PFA 室温固定 18-24 小时较为合适。
- 推荐使用 pH 6.0 citrate 缓冲液进行热修复。
- 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 小鼠结肠癌组织或 LPS 和 BFA 处理的 RAW 264.7 细胞，以确认实验体系没有问题。