

# 重组Anti-xCT抗体[EPR27115-64] (ab307601)

## 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 <sup>②</sup>	Flow Cyt(Intra)	IP
Human	✓✓ (1/1000)	✓✓ (1/500)	✓✓ (1/500)	✓✓ (1/50)	✓✓ (1/1000)
Mouse	✓✓ (1/1000)	✓✓ (1/500)	✓	✓	✓
Rat	✓✓ (1/1000)	✓✓ (1/500)	✓	✓	✓

✓✓<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。②ICC/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

- xCT 是**多次跨膜蛋白**，具有多个疏水跨膜区，高温煮沸时，极易形成聚体，无法在胶中正常迁移，导致 WB 结果中条带出现在加样孔附近，目的分子量处无条带或条带信号弱，建议制备好裂解液后不加热煮样，直接上样电泳（电泳建议：电泳前，向裂解液中加入适量 2 x 上样缓冲液，混匀并室温孵育 10 分钟后，不做加热处理，然后上样跑胶），如图 1 所示。
- xCT 在大多数**健康组织**如肺、心、肝和肾中的**表达极低**，WB 检测易出现**阴性结果**。xCT 主要表达于**小脑，海马等脑部组织和肿瘤组织**；未加热处理的**大小鼠小脑组织裂解液**可作为**阳性对照**（PMID: 22667998, PMID: 35280777）。
- xCT 的预测分子量为 **55kDa**，实测分子量为 **37kDa**，这可能是它具有大量的疏水残基，会影响蛋白质在 SDS-PAGE 中的迁移，导致实际检测 xCT 分子量大小在 ~35 kDa 的位置，而翻译后修饰的 xCT 分子量大小预计在 ~55 kDa 的位置（PMID: 6177771, PMID: 11696247, 17035536）。ab307601 检测到的 37kDa 条带已通过敲除验证和 IP-MS 验证。

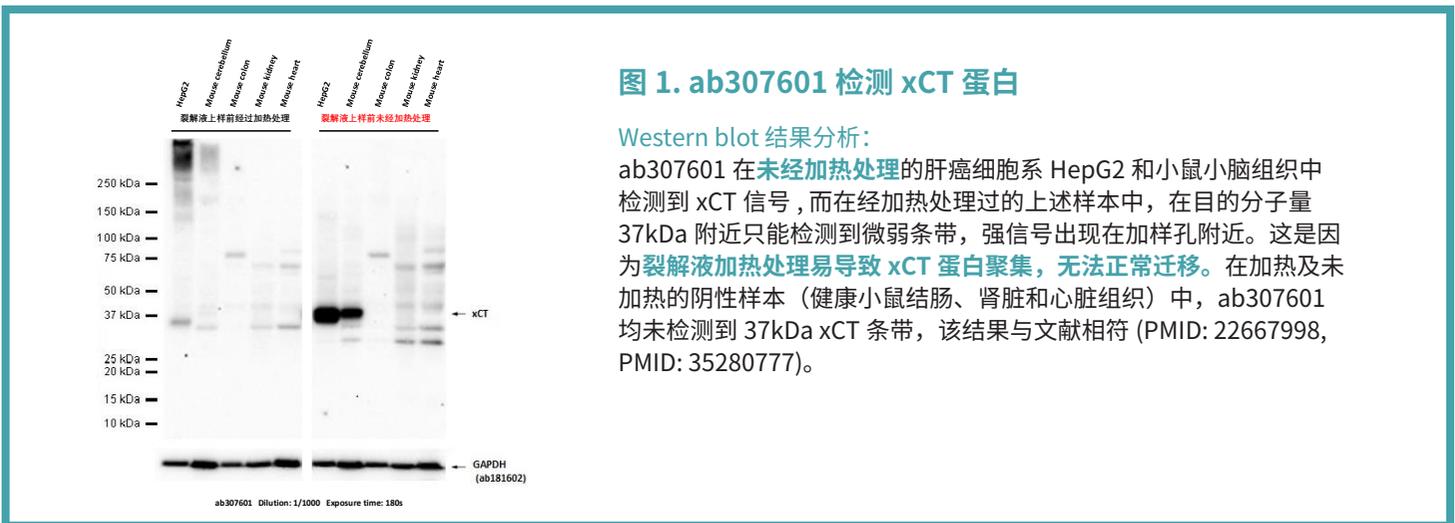


图 1. ab307601 检测 xCT 蛋白

### Western blot 结果分析:

ab307601 在**未经加热处理**的肝癌细胞系 HepG2 和小鼠小脑组织中检测到 xCT 信号，而在经加热处理过的上述样本中，在目的分子量 37kDa 附近只能检测到微弱条带，强信号出现在加样孔附近。这是因为**裂解液加热处理易导致 xCT 蛋白聚集，无法正常迁移**。在加热及未加热的阴性样本（健康小鼠结肠、肾脏和心脏组织）中，ab307601 均未检测到 37kDa xCT 条带，该结果与文献相符（PMID: 22667998, PMID: 35280777）。

## 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	<p>xCT在不同组织表达差异很大,请确认待检组织中xCT的蛋白表达水平,可选择蛋白表达水平高的组织为阳性对照,如小鼠小脑组织。</p> <p>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。</p> <p>不要煮样,裂解液制备后直接上样电泳。</p> <p>适当增加样本裂解液上样量,例如上样50µg/泳道总蛋白。</p> <p>增加一抗使用量,可尝试降低一抗稀释度至1/500。</p> <p>增加二抗使用量,推荐使用ab97051 或ab205718 (二抗稀释度1/2000-1/20000)。</p> <p>不要裁膜,请尽量保留全膜进行实验。</p> <p>强烈建议转膜完成后使用丽春红染色,确定转膜是否成功。</p> <p>增加曝光时间,可适当延长曝光时间至3分钟或更长时间。</p> <p>选择敏感度为飞克级别的ECL底物。</p>
条带问题	<p>xCT是多次跨膜蛋白,蛋白制备时极易发生聚集,聚体条带位置靠近上样孔。</p> <p>xCT预测分子量为55 kDa,实际检测分子量为37 kDa (PMID: 26494316, 18806690, 25384799, 30425240, 29693305)。</p> <p>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。</p>

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

