

CD31

Western Blot

<https://www.abcam.com/protocols/general-western-blot-protocol>

靶标概述

CD31 是一个跨膜蛋白 (PMID:21464369, 17580308)，在进行 Western Blot 实验时需要特别注意。CD31 有许多翻译后修饰，包括糖基化和磷酸化 (PMID:26702061, 19349973, 19159218, 19342684, 21464369, 9298995)，使得实际检测到的条带大小在 130kD 附近，与预测的 79-83kD 不同。

以下有一些小贴士，有助于获得理想的 WB 实验结果：

样本制备	<ul style="list-style-type: none"> ● 添加足够量的蛋白酶抑制剂（或对于磷酸化修饰蛋白添加足量磷酸酶抑制剂）以避免靶标蛋白降解。
	<ul style="list-style-type: none"> ● 整个样本制备过程中，保持样本置于冰上。
	<ul style="list-style-type: none"> ● 通过 Bradford 分析、Lowry 分析或 BCA 分析测定样本总蛋白浓度。
电泳	<ul style="list-style-type: none"> ● 对于分子量较大的靶标蛋白（如分子量>100 kDa），请使用 8%或更低浓度的分离胶进行电泳。
	<ul style="list-style-type: none"> ● 至少上样 20-50μg 总蛋白 进行电泳。
转膜	<ul style="list-style-type: none"> ● 对于分子量较大的靶标蛋白，我们建议您在转膜液中加入 SDS 至终浓度 0.1%。
	<ul style="list-style-type: none"> ● 强烈建议转膜完成后使用丽春红染色，确定转膜是否成功。

以下有一些注意事项，有助于获得更好的 WB 实验结果：

- ✓ 如果有必要，使用糖苷酶、磷酸酶处理样本以确认条带特异性。
- ✓ 实际检测到的条带大小在 130kD 附近。

Immunohistochemistry

<https://www.abcam.com/protocols/immunostaining-paraffin-frozen-free-floating-protocol>

靶标概述

CD31 在血小板和白细胞中广泛表达，并且主要集中在内皮细胞边界处（PMID:18388311, 21464369）。研究人员可以使用它来识别血管和内皮细胞。病理学家用它来识别肿瘤的血管起源，但是鼻窦也可能有信号（PMID:14514787, 15737030）。CD31 也被用来识别血管侵袭（PMID:14514787, 15737030）或评估肿瘤微环境血管密度（PMID:18343785）。

以下有一些小贴士，有助于获得理想的 IHC 实验结果：

样本固定	<ul style="list-style-type: none">●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，固定 18-24 小时较为合适。
抗体孵育	<ul style="list-style-type: none">●进行初次实验时，请根据产品说明书选择最优抗体工作浓度。

Immunocytochemistry/Immunofluorescence

<https://www.abcam.com/protocols/immunocytochemistry-immunofluorescence-protocol>

靶标概述

CD31 在内皮细胞，B 细胞，血小板，巨噬细胞，单核细胞，NK 细胞和 T 细胞中表达（PMID:18388311, 21464369）。它是内皮细胞的生物标志物之一，被广泛用于 ICC/IF 中的细胞类型确认与蛋白共定位。

以下有一些小贴士，有助于获得理想的 ICC/IF 实验结果：

样本固定	<ul style="list-style-type: none">●建议使用 4% PFA 对细胞固定 20 分钟。●过度固定会降低实验信号。
样本通透	<ul style="list-style-type: none">●对于细胞核蛋白，建议您使用 0.1-0.2% Triton-X 100 或 NP-40 对细胞进行 10 分钟的通透处理。
抗体孵育	<ul style="list-style-type: none">●使用 0.3M 甘氨酸 淬灭醛基引起的自发荧光。

蛋白功能	<p>CD31 是大多数炎症条件下白细胞经内皮迁移 (TEM) 所需的细胞粘附分子 (PMID:19342684, 17580308)。反式同型相互作用可能通过细胞连接在内皮细胞与细胞的粘附中起作用 (PMID:27958302)。与 CD177 的异嗜相互作用在嗜中性粒细胞的内皮迁移中起作用 (PMID:17580308)。PECAM1 的同型连接通过传递分离信号来防止巨噬细胞介导的相邻活白细胞的吞噬作用 (PMID:12110892)。通过将巨噬细胞介导到吞噬细胞上来促进巨噬细胞介导的吞噬作用; PECAM1 介导的脱离信号似乎在凋亡的白细胞中失效 (PMID:12110892)。调节缓激肽受体 BDKRB2 激活 (PMID:18672896)。调节缓激肽和高渗休克诱导的内皮细胞 ERK1 / 2 激活 (PMID:18672896)。</p> <p style="text-align: right;">SwissProt: P16284</p>
组织表达	<p>CD31 在血小板, 白细胞中表达。主要集中在内皮细胞之间的边界 (PMID:18388311, 21464369)。</p> <p>在嗜中性粒细胞 (PMID:17580308), 人脐静脉上皮细胞 (HUVECs) 中表达 (PMID:19342684, 17580308)</p> <p>在所有检测过的组织中, 长异构体占主导地位 (PMID:12433657)。</p>
细胞定位	<p>细胞膜 (PMID: 17580308)</p> <p>fMLP 或 CXCL8 / IL8 介导的刺激下中性粒细胞的细胞表面表达下调 (PMID: 17580308)</p>
异构体	<p>人: 异构体 1-6: 79-83kD (预测)</p> <p>小鼠: 异构体 1-4: 70-81kD (预测)</p> <p>由于 CD31 存在多种异构体, 在 WB 中检测的条带大小与预测值并不一致。</p>
修饰	<p>糖基化 (PMID:26702061, 19349973, 19159218)</p> <p>磷酸化 (PMID:21464369, 9298995, 19342684, 18710921)</p> <p>棕榈酰化 (PMID: 17139370, 22496122)</p> <p>由于 CD31 存在多种翻译后修饰, 在 WB 中检测的条带大小与预测值并不一致。</p>
阳性对照	<p>WB: HUVEC 和 Jurkat 细胞裂解液 (ab7899) 人脾脏与肾脏组织裂解液</p> <p>IHC: 人扁桃体组织</p> <p>ICC: HUVEC 细胞</p>
阴性对照	<p>WB: NIH/3T3 全细胞裂解液 (ab7179)</p>