

## NLRP3

### Western Blot

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

#### 靶标概述

NLRP3 可被翻译后修饰，例如泛素化和磷酸化。在人和小鼠中，NLRP3 有多个异构体。因此，在 WB 实验中，NLRP3 可能会检测到多条条带。

NLRP3 的分子量在 118 kDa 左右。因此电泳时推荐使用 8% 分离胶。转膜时推荐在转膜缓冲液中添加终浓度为 **0.1%** 的 SDS。

#### 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	●使用蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂，防止靶标蛋白被降解。
	●超声破碎样本，以获得更多的靶标蛋白。
	●整个 WB 过程尽量在冰浴进行，以防止蛋白降解。
	●使用 Bradford assay、Lowry assay 或者 BCA 方法测定蛋白浓度。
电泳	●分子量大的靶标蛋白 (分子量 >100 kDa)，推荐使用 <b>8%</b> 分离胶。
转膜	●在转膜缓冲液中添加终浓度为 0.1% 的 SDS。
	●充分冲洗 PVDF 膜，确保甲醇全部去除。
	●强烈建议转膜完成后用丽春红染色来可视化蛋白，以判断是否转膜成功。

#### 以下有一些注意事项，有助于获得更好的 WB 实验结果：

- ✓ LPS 处理会增加细胞内 NLRP3 的表达。(PMID: 22569257)
- ✓ 在 WB 实验中，NLRP3 可能会检测到多条条带。NLRP3 可被翻译后修饰，例如泛素化和磷酸化。在人和小鼠中，NLRP3 有多个异构体。
- ✓ 在血液白细胞中、多形核细胞和成骨细胞中表达。  
在 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞中分别检测不到或低表达。  
软骨细胞高表达。在口咽、食管和子宫颈的非角化上皮和膀胱的尿路上皮中可以检测到表达。  
(SwissProt: Q96P20)

蛋白功能	<p>NLRP3 可能有诱导细胞凋亡的作用。NLRP3 选择性地与 ASC 相互作用形成复合物，该复合物可能作为 NF-kappa-B 信号的上游激活子。NLRP3 抑制 TNF-alpha，TNF-alpha 诱导 RELA/NF-KB p65 的激活和核转运。NLRP3 也抑制 RELA 的转录活性。NLRP3 激活 caspase-1，响应细菌或病毒感染等多种触发因素，导致 IL1B 和 IL18 的加工和释放。</p> <p style="text-align: right;"><a href="#">SwissProt: Q96P20</a></p>
组织表达	<p>在血液白细胞中、多形核细胞和成骨细胞中表达。在 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞中分别检测不到或低表达。软骨细胞高表达。在口咽、食管和子宫颈的非角化上皮和膀胱的尿路上皮中可以检测到表达。</p>
细胞定位	<p>细胞质</p>
异构体	<p>人：异构体 1: 84kD (预测)  异构体 2: 106kD (预测)  异构体 3-6: 110-120kD (预测)</p> <p>小鼠：异构体 1: 96kD (预测)  异构体 2-4: 110-120kD (预测)</p> <p>大鼠：异构体 1: 119kD (预测)</p> <p>由于 <b>NLRP3</b> 的不同修饰形式和异构体，<b>WB</b> 中观察到的 <b>NLRP3</b> 的条带大小可能与预测的分子量大小不完全一致</p>
修饰	<p>磷酸化/泛素化</p>
阳性对照	<p><b>WB</b> 人 THP1 WT 细胞(用 200 ng/ml LPS 处理 3 小时)  RAW 264.7 (+/- treatment with LPS) <a href="#">ab7187</a>  大鼠脾脏裂解液</p>
阴性对照	<p>Jurkat (人白血病 T 淋巴细胞) 全细胞裂解液</p>