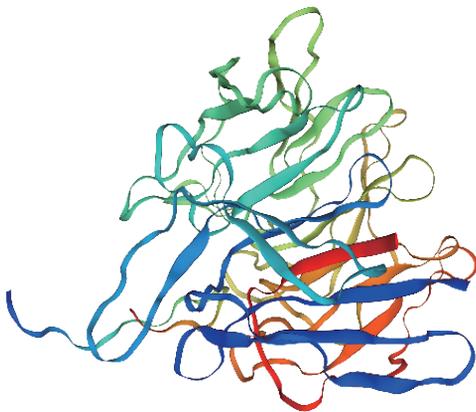


Nrf2 (NFE2L2)



图一：Nrf2蛋白结构。图片来源：SWISS-MODEL。

Nrf2靶点介绍

蛋白功能

- Nrf2是一个对于氧化应激反应非常重要的转录因子，它会结合在位于许多细胞保护基因启动子区域的抗氧化反应元件（ARE）上。
- 在正常情况下，Nrf2会被BCR（KEAP1）复合体泛素化修饰并在细胞质中降解。
- 在氧化应激反应中，亲电子代谢物会抑制BCR（KEAP1）复合体活性，促进NFE2L2/NRF2与一类小的Maf蛋白形成异二聚体，在细胞核内发生聚集现象。
- Nrf2也会通过调节 β -珠蛋白增强子活性参与 β -珠蛋白簇基因的转录激活。

蛋白表达

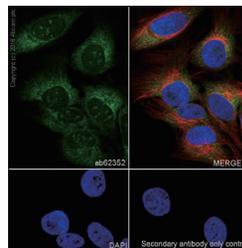
- 广谱表达。
- 成年肌肉、肾脏、肺、肝组织和新生胎儿肌肉组织中高表达。

蛋白定位

- 在正常情况下，Nrf2定位于胞质。
- 在氧化应激反应，亲电试剂，化学激活剂刺激下，Nrf2在细胞核中聚集。

异构体 & 翻译后修饰

- 人（Q16236）：异构体1-3：65-68 kDa（预测）
- 小鼠（Q60795）：67kDa（预测）
- 大鼠（O54968）：异构体1-2：67-68 kDa（预测）
- Nrf2具有乙酰化，糖基化，磷酸化，泛素化修饰



图二：Nrf2 ICC实验结果图，Anti-Nrf2 antibody [EP1808Y] - ChIP Grade (ab62352)。

绿色：Nrf2，红色：Tubulin，蓝色：DAPI。

WB实验贴士

注意事项

- 在正常情况下，Nrf2会被泛素化修饰并在细胞质中降解导致在WB中难以检测，加入MG132能有效抑制该降解过程，增加Nrf2的检测信号。
- 氧化应激反应，亲电试剂，化学激活剂和自噬会导致NFE2L2/NRF2在细胞核内聚集，所以适当的样本刺激处理对于WB实验的成功至关重要。
- Nrf2预测分子量68kDa，但由于存在异构体及翻译后修饰，WB实验中可能观察到多条条带的情况，同时，实际检测到的分子量大于100kDa，与预测分子量存在区别，建议不要裁膜。

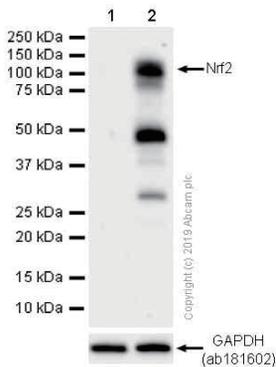
阳性对照

- 2 μ M MG-132处理18小时的Hela或HepG2全细胞裂解液。
- 25 μ M MG-132处理4小时的HCT 116全细胞裂解液。
- 30 μ M tBHQ处理4小时的MDA-MB-231细胞核裂解液。
- 人源重组Nrf2蛋白（ab132356）。

阴性对照

- 未经刺激处理的正常Hela、HCT 116、HepG2等全细胞裂解液。

结果示例



图三：WB-Anti-Nrf2 antibody [EP1808Y] - ChIP Grade (ab62352)。

一 抗：使用ab62352，浓度1/200

封闭：使用5%脱脂牛奶

泳道1：未经处理的HCT 116全细胞裂解液

泳道2：25 μ M MG-132处理4小时的HCT 116全细胞裂解液

二 抗：使用ab97051，浓度1/20000

预测条带大小：68kDa

检测条带大小：100kDa

关键控制点

在实验中除了需要注意常规问题外，还要特别关注以下关键控制点：

- 样本制备：-添加足够量的蛋白酶抑制剂以避免靶标蛋白降解。
-超声破碎处理细胞以富集靶标蛋白。
-通过Bradford分析、Lowry分析或BCA分析测定样本总蛋白浓度。
- 电泳：-至少上样20 μ g总蛋白进行电泳。
- 转膜：-强烈建议转膜完成后使用丽春红染色，确定转膜是否成功。
- 抗体孵育：-强烈建议在WB实验时使用新鲜抗体，避免重复使用。

参考文献

PMID: 11035812, 31398338, 7937919.