

Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 红色, 鼠单抗)

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-------------------------------|-------|
| C2312S | Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 红色, 鼠单抗) | >100次 |

产品简介:

- 碧云天生产的Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 红色, 鼠单抗), 英文名为Ki67 Cell Proliferation Assay Kit (IF, Red, Mouse mAb), 即Ki67 Cell Proliferation Assay Kit (Immunofluorescence, Red, Mouse Monoclonal Antibody), 是通过免疫荧光染色检测细胞增殖标记物Ki67的表达水平以确认细胞是否处于增殖状态的检测试剂盒[1]。本试剂盒中的Ki67鼠单抗可以识别人、小鼠或大鼠的Ki67, 因此本试剂盒可以通过荧光显微镜或高内涵筛选(High content screening, HCS)等检测人、小鼠或大鼠等细胞或组织样品中的增殖情况。
- 本试剂盒提供了固定液、洗涤液、封闭液、一抗、荧光标记二抗、细胞核染色液、封片液, 使用时不必再配制其它任何溶液。使用本试剂盒检测HeLa细胞增殖的效果请参考图1。

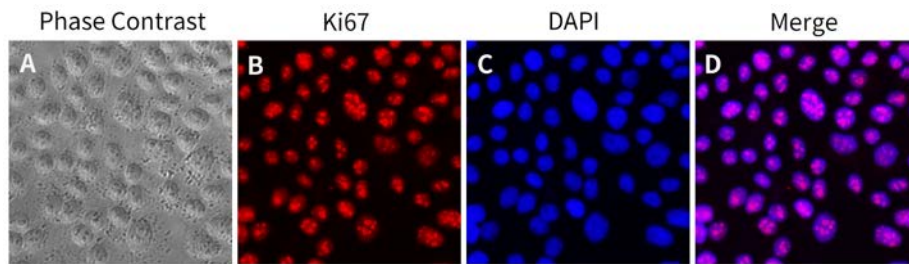


图1. 碧云天Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 红色, 鼠单抗) (C2312S)检测HeLa细胞增殖的效果图。实际染色效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 本试剂盒中提供的封闭液为碧云天的QuickBlock™免疫染色封闭液(P0260), 仅10分钟左右即可完成封闭。
- 使用本试剂盒染色后Ki67呈红色荧光, 其最大激发波长为550nm, 最大发射波长为570nm; 细胞核呈蓝色荧光, 其最大激发波长为364nm, 最大发射波长为454nm。
- Ki67是一种与增殖相关的核蛋白, 由MKI-67基因编码, 又称为MKI-67。Ki67主要分布在分裂间期的核仁皮层, 并在有丝分裂期间被募集到浓缩的染色体中[2,3], 通常只在增殖细胞中表达[4]。其表达在不同的细胞周期阶段有所不同, 在G1期至有丝分裂时升高, 有丝分裂后立即迅速降低; 存在于G1期、S期、G2期和有丝分裂期的细胞核中, 而G0期静止细胞的细胞核中不表达[5,6]。因此, Ki67的表达水平可以有效反映细胞的增殖状态。Ki67在癌细胞中高表达, 并被认为是肿瘤标志物[7]。在恶性疾病的回顾性研究中, Ki67作为一种潜在的预后标志物被广泛研究。越来越多的临床研究表明, Ki67是一种癌症诊断的重要指标。
- 本系列产品包括Ki67兔单抗和小鼠单抗两类抗体, 同时提供绿色和红色两种荧光二抗, 以满足不同的染色和应用需求, 具体见相关产品。
- 如果检测96孔板内的样品, 本试剂盒可以检测100-500个样品(抗体重复使用0-4次); 如果用于检测6孔板内的样品, 通常可以检测25-50个样品(抗体重复使用4-9次); 如果检测组织切片至少可以检测50个样品。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|--------------|---------|
| C2312S-1 | 固定液 | 50ml |
| C2312S-2 | 洗涤液 | 250ml×2 |
| C2312S-3 | 免疫荧光染色封闭液 | 50ml |
| C2312S-4 | Ki67鼠单抗 | 5ml |
| C2312S-5 | 抗鼠Cy3 | 5ml |
| C2312S-6 | 细胞核染色液(DAPI) | 50ml |
| C2312S-7 | 抗荧光淬灭封片液 | 10ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

固定液、细胞核染色液(DAPI) -20℃保存, 其余试剂均4℃保存, 半年有效。其中抗鼠Cy3和细胞核染色液(DAPI)须避光保存。

注意事项：

- 固定液对人体有害，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 免疫荧光染色时，请注意回收使用过的Ki67鼠单抗和抗鼠Cy3。回收后通常至少可以重复使用5次，如果出现浑浊、沉淀等异常现象，应停止使用。
- 每次使用洗涤液洗涤时须尽量吸尽残余液体，同时要保持样品表面有些湿润，不能干掉，最后一次洗涤完时吸尽洗涤液。
- 需使用可以观察红色荧光和蓝色荧光的荧光显微镜或高内涵分析仪。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 对于贴壁细胞：

- 吸除培养液，用PBS洗涤1次。
- 加入固定液，固定5-15分钟。固定液的用量充分盖住样品即可，对于6孔板中的样品，通常每孔加入1ml固定液。对于96孔板中的样品，通常每孔加入100 μ l固定液，其它多孔板的用量可以适当参考执行，后续以6孔板为例进行描述。
- 吸除固定液，用洗涤液洗涤3次，每次3-5分钟。
- 加入免疫染色封闭液，室温封闭10-20分钟。免疫染色封闭液的用量充分盖住样品即可，对于6孔板中的样品，通常加入1ml免疫染色封闭液。
- 吸除免疫染色封闭液，加入Ki67鼠单抗，室温孵育1小时或4 $^{\circ}$ C孵育过夜。Ki67鼠单抗的用量充分盖住样品即可，对于6孔板或96孔板中的样品，通常分别加入1ml或50 μ l Ki67鼠单抗。
- 小心吸出Ki67鼠单抗到适当的容器内，4 $^{\circ}$ C保存，留做下次使用。注：Ki67鼠单抗通常至少可以重复使用5次。
- 洗涤液洗涤3次，每次5-10分钟。
- 加入抗鼠Cy3，室温孵育1小时。抗鼠Cy3的用量充分盖住样品即可，对于6孔板中的样品，通常加入1ml抗鼠Cy3。
- 小心吸出抗鼠Cy3到适当的容器内，4 $^{\circ}$ C保存，留做下次使用。注：抗鼠Cy3通常至少可以重复使用5次。
- 洗涤液洗涤2次，每次5-10分钟。
- 加入细胞核染色液(DAPI)，室温染色5分钟左右。细胞核染色液的用量充分盖住样品即可，对于6孔板中的样品，通常加入1ml细胞核染色液(DAPI)。
- 吸除细胞核染色液，用洗涤液洗涤3次，每次3-5分钟。
- 如果是6孔板等较大的孔板，可以滴加适当量的抗荧光淬灭封片液，盖玻片封片后荧光显微镜下观察。如果是96孔板，通常可以在保留洗涤液的情况下直接进行观察和拍照，或使用高内涵分析仪进行拍照分析。Ki67的染色为红色荧光，细胞核的DAPI染色为蓝色荧光。

2. 对于悬浮细胞：

- 离心收集细胞，PBS洗涤1次。吸尽PBS后把细胞适当弹散。
- 加入固定液，轻轻悬浮细胞，固定5-15分钟。
- 离心，去除固定液。
- 加入洗涤液洗涤1次。
- 取少许洗涤液重悬细胞，滴加到盖玻片或载玻片上，做成涂片。充分晾干后继续后续操作。
- 洗涤液洗涤2次，每次5分钟。每次洗涤时须尽量吸尽残余液体，同时要保持样品表面有些湿润，不能干掉，最后一次洗涤完毕时吸尽洗涤液。
- 转1.d。后续步骤同1.d起的步骤。或者也可以采用滴染的方法，具体参考如下的步骤。
- 使用免疫组化笔画圈并干燥。免疫组化笔推荐Liquid Blocker Super PAP Pen (免疫组化笔) (P0139)。
- 滴加适量免疫染色封闭液，以充分覆盖样品并且不溢出圈为宜。湿盒内孵育10-20分钟。
- 吸除免疫染色封闭液，滴加适量Ki67鼠单抗，以适当覆盖样品并且不溢出圈为宜，湿盒内室温孵育1小时或4 $^{\circ}$ C孵育过夜。
- 吸除Ki67鼠单抗，洗涤液洗涤3次，每次用洗涤液孵育5-10分钟。
- 滴加适量抗鼠Cy3，以适当覆盖样品并且不溢出圈为宜，湿盒内室温孵育1小时。
- 吸除抗鼠Cy3，洗涤液洗涤2-3次，每次用洗涤液孵育5-10分钟。
- 滴加适量细胞核染色液(DAPI)，适当覆盖样品并不溢出圈即可，室温孵育5分钟左右。
- 吸除细胞核染色液(DAPI)，洗涤液洗涤3次，每次用洗涤液孵育3-5分钟。
- 滴加适量的抗荧光淬灭封片液，盖玻片封片后荧光显微镜下观察。Ki67的染色为红色荧光，细胞核的DAPI染色为蓝色荧光。

3. 对于组织切片：

- 对于石蜡切片先进行常规的脱蜡和水化处理，对于冷冻切片可以直接进行后续步骤。
- 转1.b。后续步骤同1.b起的步骤。或者也可以采用滴染的方法，具体可以转2.h起的步骤。

参考文献：

- Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Int J Cancer. 1983. 31(1):13-20.
- Isola J, Helin H, Kallioniemi OP. Histochem J. 1990. 22(9):498-506.
- Verheijen R, Kuijpers HJ, Schlingemann RO, et al. J Cell Sci. 1989. 92 (Pt 1):123-130.
- Scholzen T, Gerdes J. J Cell Physiol. 2000. 182(3):311-322.

5. du Manoir S, Guillaud P, Camus E, Seigneurin D, Brugal G. Cytometry. 1991. 12(5):455-463.
6. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, et al. J Immunol. 1984. 133(4):1710-1715.
7. Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard J, Patard J, Manunta A, et al. Urology. 2000. 55(4):501-505.

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-------------------------------|-------|
| C2301S | Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 红色, 兔单抗) | >100次 |
| C2305S | Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 绿色, 兔单抗) | >100次 |
| C2312S | Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 红色, 鼠单抗) | >100次 |
| C2317S | Ki67细胞增殖检测试剂盒(免疫荧光法, 绿色, 鼠单抗) | >100次 |
| C2323S | Ki67细胞增殖检测试剂盒(IHC法, 兔单抗) | >100次 |
| C2328S | Ki67细胞增殖检测试剂盒(IHC法, 鼠单抗) | >100次 |

Version 2023.11.02