

## 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 兔抗, 绿色荧光)

| 产品编号  | 产品名称                           | 包装   |
|-------|--------------------------------|------|
| C3262 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 兔抗, 绿色荧光) | >50次 |

### 产品简介:

- 碧云天生产的多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 兔抗, 绿色荧光), 英文名为Pluripotent Stem Cell Immunofluorescence Assay Kit (Oct4 Rabbit mAb, Green), 是一种通过免疫荧光染色法检测多能干细胞未分化(undifferentiated)状态的标志物Oct4的多能干细胞检测试剂盒。
- 本试剂盒中的Oct4兔单抗特异性识别人或小鼠的Oct4, 可以结合荧光显微镜或高内涵筛选(High content screening, HCS)等, 广泛应用于iPS重编程效果的判定, 多能干细胞的干性(stemness)评估, 以及干细胞的分化检测等。
- 本试剂盒提供了固定液、洗涤液、封闭液、一抗、荧光标记二抗、细胞核荧光染色液、封片液, 使用时不必再配制其它任何溶液。提供了细胞核荧光染色液, 可以把细胞核染成蓝色荧光。使用本试剂盒检测小鼠胚胎干细胞E14TG2a、人类胚胎干细胞H9和小鼠成纤维细胞NIH3T3细胞的效果参考图1。

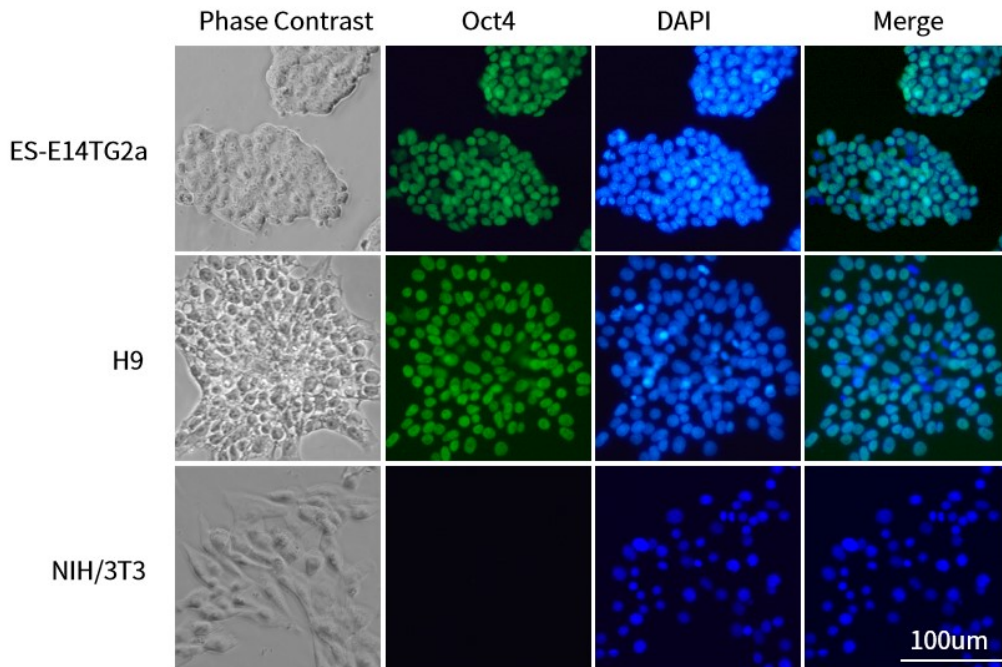


图 1. 碧云天多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 兔抗, 绿色荧光)检测小鼠胚胎干细胞 E14TG2a、人类胚胎干细胞 H9 和 NIH3T3 细胞的染色效果图。ES-E14TG2a 小鼠胚胎干细胞, 去除 MEF 接种至铺被有 BeyoEmbryo™ 0.1%明胶溶液(胚胎细胞培养级) (C0316)的六孔板中培养。H9 人胚胎干细胞接种至 BeyoEmbryo™ Human Vitronectin (胚胎细胞培养级) (C0318)铺被的六孔板中培养。均培养 2-3 天后使用本试剂盒做免疫荧光染色。NIH3T3 作为阴性对照细胞核无绿色荧光, 而小鼠胚胎干细胞 E14TG2a 和人类胚胎干细胞 H9 细胞核呈现 Oct4 阳性染色。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, 仅10分钟左右即可完成封闭。
- 使用本试剂盒染色后Oct4呈绿色荧光, 其最大激发波长为495nm, 最大发射波长为519nm; 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。
- Oct4 基因也被称为 Oct3、POU5F1、Oct3 或 Oct4, 是 POU 转录因子家族中的一员。在鼠和人体内, 它主要表达于胚胎干细胞及生殖干细胞中, 对于维持胚胎干细胞的未分化状态和自我更新具有极其重要的作用, 分化后的多能干细胞 Oct4 表达水平大幅下降[1,2]。
- 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    |
|---------|--------------|-------|
| C3262-1 | 固定液          | 50ml  |
| C3262-2 | 洗涤液          | 500ml |
| C3262-3 | 免疫荧光染色封闭液    | 50ml  |
| C3262-4 | Oct4兔单抗      | 5ml   |
| C3262-5 | 山羊抗兔488      | 5ml   |
| C3262-6 | 细胞核染色液(DAPI) | 50ml  |
| C3262-7 | 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°C保存，其余试剂均4°C保存，半年有效。其中山羊抗兔488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一抗和二抗。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。
- 需使用可以观察绿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：

- a. 吸除培养液，用PBS洗涤1次。
- b. 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100μl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。
- c. 吸除固定液，用洗涤液洗涤3次，每次3-5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，最后一次洗涤完时吸尽洗涤液。
- d. 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。
- e. 吸除免疫染色封闭液，加入Oct4兔单抗(一抗)，室温孵育1小时或4°C孵育过夜。一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50μl一抗。
- f. 小心吸出一抗到适当的容器内，4°C保存，留做下次使用。注：一抗通常至少可以重复使用5次。
- g. 洗涤液洗涤3次，每次5-10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，最后一次洗涤完时吸尽洗涤液。
- h. 加入山羊抗兔488(二抗)，室温孵育1小时。二抗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二抗。
- i. 小心吸出二抗到适当的容器内，4°C保存，留做下次使用。注：二抗通常至少可以重复使用5次。
- j. 洗涤液洗涤2次，每次5-10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，最后一次洗涤完时吸尽洗涤液。
- k. 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)。
- l. 吸除细胞核染色液，用洗涤液洗涤3次，每次3-5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，最后一次洗涤完时吸尽洗涤液。
- m. 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。Oct4的染色为绿色荧光，细胞核的DAPI染色为蓝色荧光。

#### 2. 对于悬浮细胞：

- a. 离心收集细胞，PBS洗涤1次。吸尽PBS后把细胞适当弹散。
- b. 加入固定液，轻轻悬浮细胞，固定5-15分钟。
- c. 离心，去除固定液。
- d. 加入洗涤液洗涤1次。
- e. 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。
- f. 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，最后一次洗涤完时吸尽洗涤液。
- g. 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。
- h. 使用免疫组化笔画圈并干燥。
- i. 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。

- j. 吸除免疫染色封闭液，滴加适量一抗，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°C孵育过夜。
- k. 吸除一抗，洗涤液洗涤3次，每次用洗涤液孵育5-10分钟。更换洗涤液过程中保持样品湿润，避免干燥。最后一次洗涤完毕时吸尽洗涤液。
- l. 滴加适量二抗，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。
- m. 吸除二抗，洗涤液洗涤2-3次，每次用洗涤液孵育5-10分钟。更换洗涤液过程中保持样品湿润，避免干燥。最后一次洗涤完毕时吸尽洗涤液。
- n. 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。
- o. 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。更换洗涤液过程中保持样品湿润，避免干燥。最后一次洗涤完毕时吸尽洗涤液。
- p. 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。Oct4的染色为绿色荧光，细胞核的DAPI染色为蓝色荧光。
- 3. 对于组织切片：**
- a. 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。
- b. 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：

1. Rodda DJ, Chew JL, Lim LH, Loh YH, et al. J Biol Chem. 2005. 280(26):24731-7.
2. Kotoula V, Papamichos SI, Lambropoulos AF. Stem Cells. 2008. 26(1):290-1.

### 相关产品：

| 产品编号  | 产品名称                               | 包装    |
|-------|------------------------------------|-------|
| C3251 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Klf4, 兔抗, 红色荧光)     | >50 次 |
| C3252 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Klf4, 兔抗, 绿色荧光)     | >50 次 |
| C3256 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Nanog, 兔抗, 红色荧光)    | >50 次 |
| C3257 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Nanog, 兔抗, 绿色荧光)    | >50 次 |
| C3261 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 兔抗, 红色荧光)     | >50 次 |
| C3262 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 兔抗, 绿色荧光)     | >50 次 |
| C3263 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 鼠抗, 红色荧光)     | >50 次 |
| C3264 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Oct4, 鼠抗, 绿色荧光)     | >50 次 |
| C3266 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Sox2, 兔抗, 红色荧光)     | >50 次 |
| C3267 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Sox2, 兔抗, 绿色荧光)     | >50 次 |
| C3268 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Sox2, 鼠抗, 红色荧光)     | >50 次 |
| C3269 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Sox2, 鼠抗, 绿色荧光)     | >50 次 |
| C3271 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(SSEA1, 兔抗, 红色荧光)    | >50 次 |
| C3272 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(SSEA1, 兔抗, 绿色荧光)    | >50 次 |
| C3276 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(TRA-1-60, 鼠抗, 红色荧光) | >50 次 |
| C3277 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(TRA-1-60, 鼠抗, 绿色荧光) | >50 次 |
| C3278 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(TRA-1-81, 鼠抗, 红色荧光) | >50 次 |
| C3279 | 多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(TRA-1-81, 鼠抗, 绿色荧光) | >50 次 |
| C3290 | 小鼠多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(SSEA-1 & OCT4)    | >50 次 |
| C3291 | 小鼠多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(SSEA-1 & Sox2)    | >50 次 |
| C3292 | 人多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(OCT4 & TRA-1-60)   | >50 次 |
| C3293 | 人多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Sox2 & TRA-1-81)   | >50 次 |
| C3294 | 人多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Nanog & OCT4)      | >50 次 |
| C3295 | 人多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Nanog & Sox2)      | >50 次 |

Version 2023.10.09