



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301 或 800-8283301  
 订货 e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## BeyoIHC™ Cyclin D1 Rabbit Monoclonal Antibody

产品编号	产品名称	包装
AG8310	BeyoIHC™ Cyclin D1 Rabbit Monoclonal Antibody	50μl

### 产品简介:

来源	用途	交叉反应性	理论分子量	实际分子量
Rabbit	IHC, WB	Human	34kDa	34kDa

IHC-P, Immunohistochemistry-paraffin; IHC-Fr, Immunohistochemistry-frozen; IF, Immunofluorescence; ICC, Immunocytochemistry; WB, Western blot; FC, Flow Cytometry.

- 建议抗体使用时的稀释比例如下(实际使用时需根据抗原水平的高低作适当调整):

IHC-P	IHC-Fr	IF/ICC	WB	FC
1:100-1:200	N/D (not determined)	N/D	1:500-1:2000	N/D

- BeyoIHC™系列抗体是经过测试适用于免疫组织化学(Immunohistochemistry, IHC)的高品质抗体, 也称病理抗体, 很大一部分为重组兔单克隆抗体(Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody), 通过先进的兔单克隆抗体技术平台研发并生产, 无需获取动物的脾脏, 仅需分离抗原特异性B细胞并通过基因工程方法克隆抗体基因, 然后在哺乳动物细胞中重组表达并最终纯化获得[1-2]。
- **BeyoIHC™抗体灵敏度更高, 背景更低, 染色更清晰, 定位更精准。** BeyoIHC™系列抗体通过反复的筛选和测试, 确保灵敏度高、背景低、染色效果好[3]。
- **BeyoIHC™抗体特异性更强, 染色结果更为准确。** BeyoIHC™系列抗体大部分都是精心筛选的高效价单克隆抗体, 是由单个B细胞淋巴瘤表达, 只针对一个抗原表位发生特定的免疫反应, 应用于免疫组化时特异性更强, 染色结果更为准确[3]。
- **BeyoIHC™抗体一致性更好, 批次间差异更小, 结果重复性更好。** BeyoIHC™系列抗体很大一部分是重组抗体, 具有确定的抗体序列, 使用不含任何动物源性物质培养液的哺乳细胞表达体系, 生产的可重复性、一致性高, 批次间差异小, 可避免杂交瘤细胞制备过程中的基因丢失、基因突变和细胞株漂移等问题, 所制备的重组抗体的重复性更好[3]。
- BeyoIHC™系列抗体主要用于福尔马林固定石蜡包埋(Formalin fixed paraffin embedded, FFPE)样品的免疫组织化学染色(Immunohistochemistry-paraffin or Immunohistochemistry paraffin-embedded, IHC-P)。对于冰冻切片免疫组织化学(Immunohistochemistry frozen sections, IHC-Fr)、细胞免疫荧光(Immunofluorescence, IF)或免疫细胞化学(Immunocytochemistry, ICC)未经测试(Not determined)。同时, BeyoIHC™系列抗体可识别人的相应蛋白, 对于小鼠等其它种属很大一部分未经测试。对于未经测试的应用及种属样品, 理论上有可能可以检测的, 但须用户自行测试。
- BeyoIHC™系列抗体配套提供了免疫染色一抗稀释液, 可以用于IHC检测或其它适当用途时的一抗稀释。为进一步提高信噪比, 推荐使用QuickBlock™免疫染色一抗稀释液(P0262)、SignalUp™免疫染色一抗稀释液(P0277)用于IHC检测。

- 抗体详细信息如下:

About this Antibody	
Name	BeyoIHC™ Cyclin D1 Rabbit Monoclonal Antibody
Category	Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody (mAb); Primary antibody; IHC抗体
Isotype	IgG
Clone number	BA1160
Purification method	Protein A affinity purification
Positive samples	-
Cellular location	Nucleus
Customer validation	-
Epitope retrieval	Heat induced epitope retrieval with Tris-EDTA buffer (pH 9.0).
About the Immunogen	
Immunogen	Synthetic peptide corresponding to residues within aa200-295 of Cyclin D1 was used as an immunogen.
Sequence	-
Gene ID	595

Swiss Prot	P24385
Synonyms	BCL1; D11S287E; PRAD1; U21B31; CCND1
Category	Cell Cycle
Background	Mammalian cells encode three D cyclins (D1, D2, and D3) that coordinately function as allosteric regulators of cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) and CDK6 to regulate cell cycle transition from G1 to S phase. Cyclin expression, accumulation, and degradation, as well as assembly and activation of CDK4/CDK6 are governed by growth factor stimulation. Cyclin D1 is more frequently dysregulated than cyclin D2 or D3 in human cancers, and as such, it has been more extensively characterized. Overexpression of cyclin D1 results in dysregulated CDK activity, rapid cell growth under conditions of restricted mitogenic signaling, bypass of key cellular checkpoints, and ultimately, neoplastic growth. Activity of the cyclin-dependent kinases CDK4 and CDK6 is regulated by T-loop phosphorylation, by the abundance of their cyclin partners (the D-type cyclins), and by association with CDK inhibitors of the Cip/Kip or INK family of proteins. The inactive ternary complex of cyclin D/CDK4 and p27 Kip1 requires extracellular mitogenic stimuli for the release and degradation of p27 concomitant with a rise in cyclin D levels to affect progression through the restriction point and Rb-dependent entry into S-phase. The active complex of cyclin D/CDK4 targets the retinoblastoma protein for phosphorylation, allowing the release of E2F transcription factors that activate G1/S-phase gene expression. Levels of cyclin D protein drop upon withdrawal of growth factors through downregulation of protein expression and phosphorylation-dependent degradation.

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
AG8310	BeyoIHC™ Cyclin D1 Rabbit Monoclonal Antibody	50μl
AZ060	免疫染色一抗稀释液	10ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存，一年有效。免疫染色一抗稀释液也可以4°C保存，长期不使用推荐-20°C保存，但冻融可能会导致出现轻微的浑浊和少量不溶物。

### 注意事项:

- 如果本抗体用于免疫组化(IHC)等实验，请注意回收使用过的稀释抗体。回收的抗体通常可以重复使用1-5次。稀释后的抗体，包括已经使用过的稀释抗体，请4°C保存。
- 回收后重复使用的抗体，使用方法同新鲜稀释的抗体。如果在重复使用过程中发现抗体出现轻微混浊现象，可以10,000×g离心1-3分钟，取上清用于后续检测。如果回收的抗体出现明显的絮状物或长霉长菌等情况，则可以考虑废弃该抗体。
- 提供的免疫染色一抗稀释液也可以用于Western blot (WB)等适当用途。如果希望获得最佳的检测效果，推荐使用Western一抗稀释液(P0023)。
- 抗原修复过程中应防止缓冲液过度蒸发，切勿干片。
- 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:

请根据抗体的实际用途选择相应的使用方法。相关步骤仅供参考，实际可尝试使用实验室习惯方法或根据实验目的进行条件的优化。

#### 1. 免疫染色:

##### a. 石蜡切片样品的准备(Sample preparation)

- 脱蜡: 将切片放入二甲苯中脱蜡5分钟，更换成新鲜的二甲苯再脱蜡5分钟，无水乙醇5分钟，更换成新鲜的无水乙醇5分钟，95%乙醇5分钟，80%乙醇1分钟，70%乙醇1分钟，蒸馏水洗1-5分钟。
- 抗原修复: 一般使用加热抗原修复(Heat-induced epitope retrieval, HIER)的方法进行抗原修复。根据不同的抗原和抗体，可以选择抗体详细信息表格中建议的抗原修复液，或碧云天的Tris-EDTA抗原修复液(50X, pH9.0) (P0084)、EDTA抗原修复液(50X) (P0085)、柠檬酸钠抗原修复液(50X) (P0081)及其它抗原修复液(P0083/P0086/P0088)中。直接取适量抗原修复液于适当容器(例如染色缸等)中，抗原修复液以没过切片为宜，加热至沸腾后将含有切片的染色架浸入修复液中，持续加热15分钟后关火。或者在微波炉内进行抗原修复，抗原修复液以没过切片为宜，中火10分钟至沸腾，停火10分钟保温再转中低火7分钟。自然冷却至室温后，取出切片置于免疫染色洗涤液(P0106)或PBS (C0221A)中洗涤3次，每次5分钟。切片稍甩干后用免疫组化笔在组织周围画圈。

##### b. 封闭(Blocked)

首先加入内源性过氧化物酶封闭液(P0100A)，室温封闭5-10分钟后，吸尽内源性过氧化物酶封闭液，蒸馏水冲洗，PBS清洗5分钟，共清洗两次。加入免疫染色封闭液(P0102)或QuickBlock™免疫染色封闭液(P0260)，室温封闭30分钟。如果背景较高，可以4℃封闭过夜。

**注1：**从封闭开始所有的步骤，一定要注意样品的保湿，避免样品的干燥，否则极易产生较高的背景。

**注2：**在整个免疫染色过程中推荐使用碧云天的BeyoShaker™数字式翘板摇床(E6673)，侧向摆动速度比较缓慢，而且也容易让溶液覆盖样品。如果样品比较容易脱落，也可以把所有的步骤放置在桌面上静止进行，即封闭、抗体孵育、洗涤等步骤均不需摇动，但静止操作时宜适当延长作用时间或次数。

**c. 一抗孵育(Primary antibody incubation)**

- (a) 参考一抗的说明书，按照适当比例用提供的免疫染色一抗稀释液或QuickBlock™免疫染色一抗稀释液(P0262)稀释一抗。
- (b) 用微型台式真空泵(E0110/E0113)等吸尽封闭液，立即加入稀释好的一抗，室温在摇床上缓慢摇动孵育0.5-1小时，如果一抗孵育1小时效果不佳可4℃孵育过夜。
- (c) 回收一抗。加入免疫染色洗涤液，在摇床上缓慢摇动洗涤5分钟。吸尽洗涤液后，再加入洗涤液，洗涤5分钟。共洗涤3次。如果结果背景较高可以适当延长洗涤时间并增加洗涤次数。

**d. 二抗孵育(Secondary antibody incubation)**

- (a) 参考二抗的说明书，用免疫染色(非荧光)二抗稀释液(P0110)或QuickBlock™免疫组化染色二抗稀释液(P0267)稀释辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗，如辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L) (A0208)，辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L) (A0216)等。也可根据具体实验情况使用生物素(Biotin)或碱性磷酸酯酶(AP)标记的二抗，以上二抗可向碧云天订购。
- (b) 吸尽洗涤液，立即加入稀释好的二抗，室温避光孵育0.5-1小时，若短时间二抗孵育效果不佳，可适当延长二抗孵育时间。
- (c) 回收二抗。加入免疫染色洗涤液，在摇床上缓慢摇动洗涤5分钟。吸尽洗涤液后，再加入洗涤液，洗涤5分钟。共洗涤3次。如果结果背景较高，可以适当延长洗涤时间并增加洗涤次数。

**e. 蛋白检测(Detection of proteins)**

使用DAB法显色，如DAB辣根过氧化物酶显色试剂盒(P0202/P0203)，按照说明配制DAB染色工作液，加入适量DAB染色液，确保能够充分覆盖样品样本，避光室温显色3-30分钟，根据实际情况在显微镜下观察显色状态调整样本染色时间。也可根据具体实验情况选择辣根过氧化物酶标记Streptavidin (A0303/A0305)、碱性磷酸酯酶标记Streptavidin (A0312)、BCIP/NBT碱性磷酸酯酶显色试剂盒(C3206)、SABC-HRP Kit (P0603/P0612/P0614)或SABC-AP Kit (P0606/P0625/P0628)等进行检测。如有需要复染，可使用苏木素染色液(C0107)孵育3-5分钟，后续进行分化、冲洗返蓝。

**f. 镜检拍照(Microscopic examination and photography)**

依次将切片放入95%乙醇浸泡脱水30秒，更换新鲜95%乙醇浸泡脱水30秒，无水乙醇浸泡脱水1分钟，更换新鲜无水乙醇浸泡脱水1分钟，二甲苯中透明5分钟，更换新鲜二甲苯透明5分钟，共透明三次。使用中性树胶封片，室温风干后，光学显微镜下拍照。

2. 其它实验操作请自行参考适当的protocol进行。

3. 本抗体相关应用的代表性图片请参考下图。

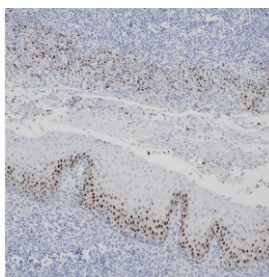


图1. Immunohistochemistry of paraffin-embedded human chordoma using Cyclin D1 antibody at dilution of 1:200 (200x lens).

**参考文献：**

- 1. Weber J, Peng H, Rader C. Exp Mol Med. 2017. 49(3):e305.
- 2. Seeber S, Ros F, Thorey I, Tiefenthaler G, Kaluza K, et al. PLoS One. 2014. 9(2):e86184.
- 3. Zhang Z, Liu H, Guan Q, Wang L, Yuan H. Front Immunol. 2017. 8:494.

**相关产品：**

产品编号	产品名称	包装
A0208	辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L)	1ml
A0216	辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)	1ml
A0239	碱性磷酸酯酶标记山羊抗兔IgG(H+L)	0.5ml

A0258	碱性磷酸酯酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)	0.5ml
A0277	生物素标记山羊抗兔IgG(H+L)	1ml
A0279	生物素高效标记山羊抗兔IgG(H+L)	0.5ml
A0286	生物素标记山羊抗小鼠IgG(H+L)	1ml
A0288	生物素高效标记山羊抗小鼠IgG(H+L)	0.5ml
A0305	辣根过氧化物酶标记Streptavidin	0.2/1/5ml
A0308	Biotin标记辣根过氧化物酶	0.2ml
A0312	碱性磷酸酯酶标记Streptavidin	0.2ml
C3206	BCIP/NBT碱性磷酸酯酶显色试剂盒	共100ml
P0081	柠檬酸钠抗原修复液(50X)	100ml
P0083	改进型柠檬酸钠抗原修复液(50X)	100ml
P0084	Tris-EDTA抗原修复液(50X, pH9.0)	100ml
P0085	EDTA抗原修复液(50X)	100ml
P0086	柠檬酸钠-EDTA抗原修复液(40X)	125ml
P0088	通用型强力抗原修复液(10X)	100ml
P0096	免疫染色通透液(Triton X-100)	100/500ml
P0098	免疫染色固定液	100/500ml
P0099	4%多聚甲醛固定液	100/500ml
P0100A	内源性过氧化物酶封闭液	100ml
P0100B	内源性过氧化物酶强力封闭液	100ml
P0100C	内源性碱性磷酸酶封闭液(20X)	6ml
P0101	生物素检测封闭试剂盒	200次
P0102	免疫染色封闭液	100ml
P0103	免疫染色一抗稀释液	100ml
P0106	免疫染色洗涤液	250ml
P0202	DAB辣根过氧化物酶显色试剂盒	共20ml
P0260	QuickBlock™免疫染色封闭液	100ml
P0262	QuickBlock™免疫染色一抗稀释液	100ml
P0267	QuickBlock™免疫组化染色二抗稀释液	100ml
P0276	SignalUp™免疫染色检测增敏剂	100/500ml
P0277	SignalUp™免疫染色一抗稀释液	100/500ml
P0278	SignalUp™免疫染色二抗稀释液	100/500ml
P0603	SABC-HRP Kit (IHC, ICC, Blotting & ELISA)	1000次
P0606	SABC-AP Kit (IHC, ICC, Blotting&ELISA)	1000次
P0612	SABC-HRP Kit with Anti-Mouse IgG (IHC&ICC)	500次
P0615	SABC-HRP Kit with Anti-Rabbit IgG (IHC&ICC)	500次
P0625	SABC-AP Kit with Anti-Mouse IgG (IHC&ICC)	500次
P0628	SABC-AP Kit with Anti-Rabbit IgG (IHC&ICC)	500次
FPP06B	Liquid Blocker Super PAP Pen (免疫组化笔, 蓝色)	1个/袋
FPP06R	Liquid Blocker Super PAP Pen (免疫组化笔, 红色)	1个/袋

Version 2022.12.13