



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™ Ki-67 Rabbit Monoclonal Antibody

产品编号	产品名称	包装
AG8471	BeyoIHC™ Ki-67 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, FC	Human	359kDa	395kDa

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	1:50-1:200

- 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™ Ki-67 Rabbit Monoclonal Antibody
Category	Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody (mAb); Primary antibody; IHC抗体
Isotype	IgG
Clone number	BA1206
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 Ki-67 residues within aa1000-1100 of Ki-67 was used as an immunogen.
Sequence	-

Gene ID	4288
Swiss Prot	P46013
Synonyms	KIA; MIB-; MIB-1; PPP1R105; MKI67
Category	Cell Cycle
Background	Ki-67, named after the location where it was discovered (Kiel University, Germany), is a nuclear nonhistone protein that is universally expressed among proliferating cells and absent in quiescent cells. Ki-67 detects proliferating cells in G1, S, G2, and mitosis, but not in the G0 resting phase. Research studies have shown that high levels of Ki-67 are associated with poorer breast cancer survival. Research studies have explored the use of Ki-67, along with other markers, as potential prognostic or predictive markers in breast cancer and other malignant diseases.

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
AG8471	BeyoIHC™ Ki-67 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)

- (a) 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。
- (b) 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, 加热至沸腾后将放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°C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°C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。

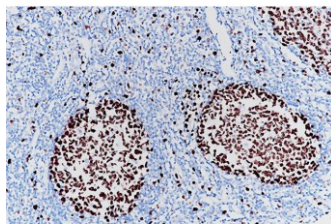


图1. Immunohistochemistry of paraffin-embedded human chordoma using Ki-67 antibody at dilution of 1:200 (200x lens).

#### 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