

多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Klf4, 兔抗, 绿色荧光)

产品编号	产品名称	包装
C3252	多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Klf4, 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(Klf4, 兔抗, 绿色荧光), 英文名为Pluripotent Stem Cell Immunofluorescence Assay Kit (Klf4 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Klf4的多能干细胞检测试剂盒。
- 本试剂盒中的Klf4兔单抗特异性识别人或小鼠的Klf4, 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的效果请参考图1。

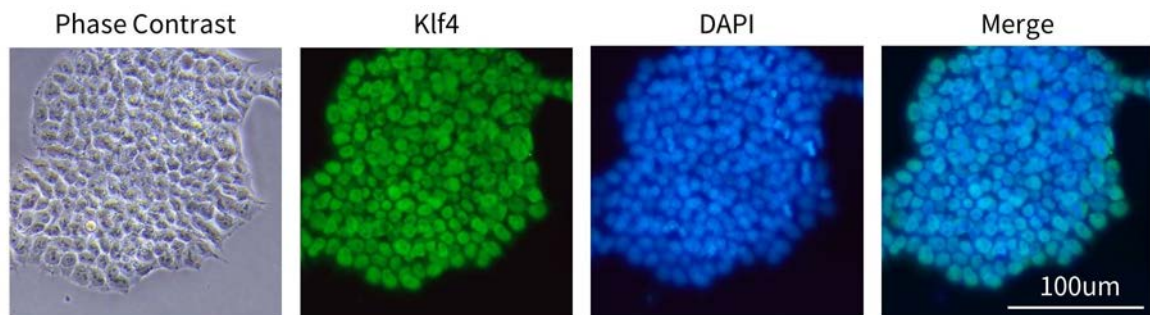


图1. 碧云天多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Klf4, 兔抗, 绿色荧光)检测小鼠胚胎干细胞E14TG2a的染色效果图。E14TG2a去除MEF后接种至铺有BeyoEmbryo™ 0.1%明胶溶液(胚胎细胞培养级)(C0316)的培养板上培养。培养2-3天后使用本试剂盒做免疫荧光染色。小鼠胚胎干细胞E14TG2a细胞核呈现Klf4阳性染色。实际染色效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 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Klf4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。
- Krüppel样因子(Krüppel-like factors, KLFs), 也称Krüppel样因子(Kruppel-like factors, KLFs), 为锌指蛋白类转录因子, 是生物体内一类具有重要功能的蛋白质, 参与调控细胞的增殖、分化、胚胎发育等重要生命过程。其中, Klf4属于KLFs家族一员, 具备KLFs家族的结构特性。Klf4在机体内广泛表达, 主要表达于消化道、口腔、食管上皮、皮肤表皮、血管内皮及胸腺上皮细胞。胚胎发育过程中, Klf4可调节关键转录因子的表达及胚胎干细胞的维持和分化, 是体细胞重编程为诱导多能干细胞(iPS细胞)的重要诱导因子之一。2006年, Kazutoshi等首次证实, Klf4、Sox2、Oct4和c-Myc转录因子能够将小鼠成纤维细胞诱导成iPS细胞[1]。此外, Klf4与肿瘤的发生、发展及预后密切相关。众多研究表明, Klf4在肿瘤发生发展过程具有双重作用, 既可作为抑癌基因又可作为癌基因, 并具有类型特异性[2-4]。
- 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
C3252-1	固定液	50ml
C3252-2	洗涤液	500ml
C3252-3	免疫荧光染色封闭液	50ml
C3252-4	Klf4兔单抗	5ml
C3252-5	山羊抗兔488	5ml
C3252-6	细胞核染色液(DAPI)	50ml
C3252-7	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Klf4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。Klf4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，最后一次洗涤完毕时吸尽洗涤液。
- 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。Klf4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. Takahashi K, Yamanaka S. Cell. 2006. 126(4):663-76.
2. Karagiannis P, Takahashi K, Saito M, Yoshida Y, Okita K, et al. Physiol Rev. 2019. 99(1):79-114.
3. Ghaleb AM, Yang VW. Gene. 2017. 611:27-37.
4. Yang L, Shi P, Zhao G, Xu J, Peng W, et al. Signal Transduct Target Ther. 2020. 5(1):8.

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