

多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Nanog, 兔抗, 红色荧光)

产品编号	产品名称	包装
C3256	多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Nanog, 兔抗, 红色荧光)	>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(Nanog, 兔抗, 红色荧光), 英文名为Pluripotent Stem Cell Immunofluorescence Assay Kit (Nanog Rabbit mAb, Red), 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Nanog的多能干细胞检测试剂盒。
- 本试剂盒中的Nanog兔单抗特异性识别人或小鼠的Nanog, 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。使用本试剂盒检测人胚胎干细胞H9和小鼠胚胎成纤维细胞MEF (CF1系)的效果参考图1。

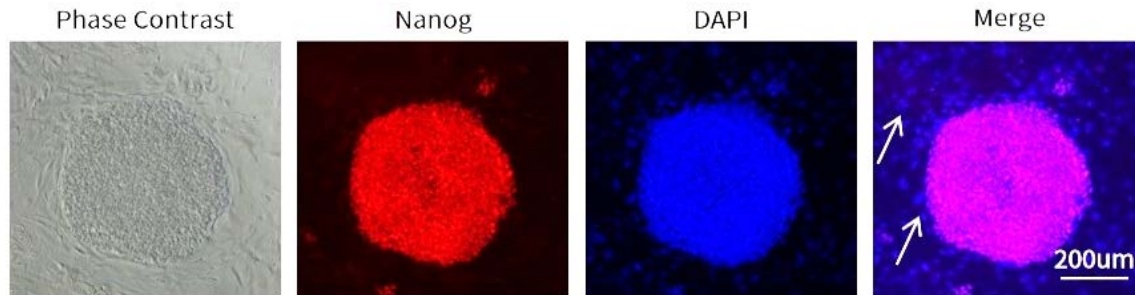


图1. 碧云天多能干细胞免疫荧光检测试剂盒(Nanog, 兔抗, 红色荧光)检测人胚胎干细胞H9和小鼠胚胎成纤维细胞MEF (CF1系)的染色效果图。H9细胞培养在铺有饲养层MEF (CF1系)细胞的培养板上。培养2-3天后使用本试剂盒做免疫荧光染色。MEF细胞(白色箭头处为饲养层MEF细胞核DAPI染色)作为阴性对照细胞核无红色荧光, 而人类胚胎干细胞H9细胞核呈现Nanog阳性染色。实际染色效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 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Nanog呈红色荧光, 其最大激发波长为555nm, 最大发射波长为565nm; 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。
- Nanog基因编码的蛋白质是一种DNA结合同源盒转录因子, 主要在胚泡的内细胞团(Inner cell mass, ICM)中表达[1]。相关研究表明, Nanog基因表达与细胞的分裂、分化情况以及细胞的干细胞特性密切相关[2,3]。在分裂旺盛的细胞中, Nanog基因高表达, 而随着细胞分化程度的加深, Nanog基因的表达量逐渐降低, 直至在完全分化的细胞中不表达。研究成体组织中Nanog的表达情况有利于了解成体干细胞的分子生物学特性及其分裂分化机制。此外, Nanog的另外一个功能是在肿瘤发生发展中扮演重要角色, 可作为肿瘤诊断标志物[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
C3256-1	固定液	50ml
C3256-2	洗涤液	500ml
C3256-3	免疫荧光染色封闭液	50ml
C3256-4	Nanog兔单抗	5ml
C3256-5	驴抗兔555	5ml
C3256-6	细胞核染色液(DAPI)	50ml
C3256-7	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。其中驴抗兔555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:

- 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。
- 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Nanog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50 μ l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. 加入驴抗兔555(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。Nanog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:

- 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。Nanog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:

- 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. Armstrong L, Hughes O, Yung S, Hyslop L, Stewart R, et al. Hum Mol Genet. 2006. 15(11):1894-1913.
2. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, et al. Science. 2007. 318(5858):1917-20.
3. Hart AH, Hartley L, Parker K, Ibrahim M, Looijenga LH, et al. Cancer. 2005. 104(10): 2092-2098.
4. Vasefifar P, Motafakkerzad R, Maleki LA, Najafi S, Ghrobaninezhad F, et al. Gene. 2022. 827:146448.

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