

NF-κB激活—核转运检测试剂盒(兔多抗)

产品编号	产品名称	包装
SN368	NF-κB激活—核转运检测试剂盒(兔多抗)	>50次

产品简介:

- NF-κB激活—核转运检测试剂盒(NF-κB Activation, Nuclear Translocation Assay Kit)是通过免疫荧光染色检测NF-κB的主要亚基p65是否转运到细胞核内从而确认NF-κB是否被激活的检测试剂盒。本试剂盒中的NF-κB p65抗体可以识别人、小鼠的NF-κB p65亚基,因此本试剂盒可以检测人或小鼠细胞或组织中的NF-κB核转运激活。
- 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,这样可以清楚地判断NF-κB是否被转运到细胞核内而被激活。使用本试剂盒检测细胞中NF-κB核转运激活的效果参考图1。

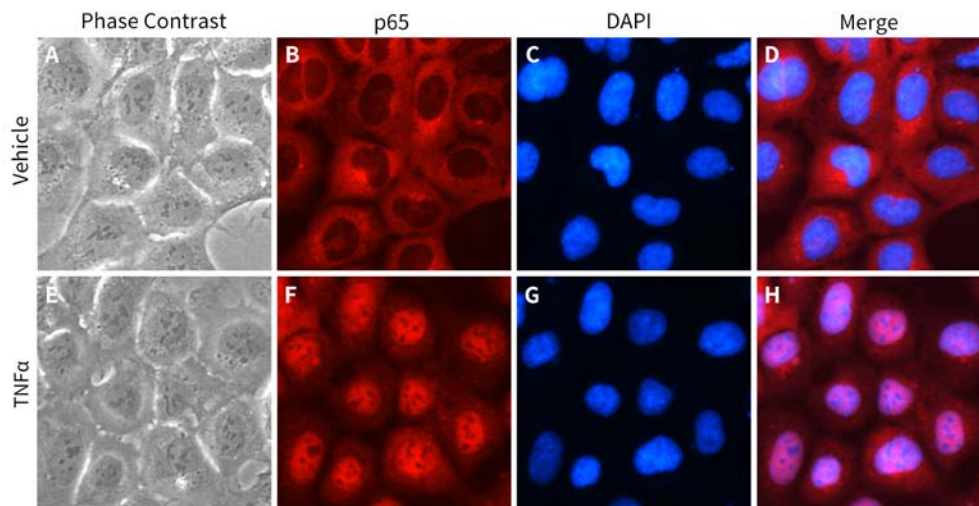


图1. NF-κB激活—核转运检测试剂盒(兔多抗)用于检测HEK293细胞中NF-κB核转运激活的效果图。正常情况下的HEK293细胞中, p65蛋白分布在细胞浆中(图B, D);在一定浓度的TNF-α刺激下, NF-κB被激活, 大多数p65转运至细胞核内(图F, H)。图中蓝色荧光为细胞核染色液(DAPI)的染色效果。实际染色效果会因实验条件、检测仪器等而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 碧云天两种NF-κB激活—核转运检测试剂盒的比较请参考下表。

产品编号	SN368	SN371
产品名称	NF-κB激活—核转运检测试剂盒(兔多抗)	NF-κB激活—核转运检测试剂盒(小鼠单抗)
包装	>50次	>50次
p65抗体类型	兔多抗	小鼠单抗
识别种属	人、小鼠	人、小鼠、大鼠
荧光二抗	抗兔Cy3 (红色荧光)	抗小鼠Cy3 (红色荧光)
细胞核染料	DAPI (蓝色荧光)	DAPI (蓝色荧光)
特异性	★★★★★	★★★★★
检测效果	★★★★★	★★★★★

- NF-κB是一种常见的转录因子, 可以被炎症因子、生长因子或趋化因子等激活。常见的炎症因子(包括Interleukin-1和TNF-α等)都可以激活NF-κB。NF-κB由两类亚基形成同源或异源二聚体。一类亚基包括p65(也称RelA)、RelB和C-Rel; 另一类亚基包括p50和p52。最常见的NF-κB亚基组成形式为p65/p50或p65/p65。
- NF-κB未被激活时和IκB-α形成一个复合物, 分布在细胞浆中。在炎症因子、生长因子或趋化因子等可以激活NF-κB的刺激存在的情况下, IκB-α会在Ser32和Ser36被磷酸化, 随后被泛素-蛋白酶体途径降解。NF-κB和IκB-α解聚后, 其核定位序列被暴露, 从而被转运到细胞核内促进NF-κB依赖的基因转录。通过免疫染色检测NF-κB的主要亚基p65是否被转移到细胞核内, 就可以判断NF-κB是否被激活。
- 本NF-κB激活—核转运检测试剂盒仅染色p65, 不染色RelB、C-Rel、p50和p52。
- 使用本试剂盒染色后NF-κB呈红色荧光, 细胞核呈蓝色荧光。

➢ 如果检测组织切片或6孔板内的细胞样品，至少可以检测50个样品，如果检测96孔板内的样品，至少可以检测250-500个样品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
SN368-1	固定液	50ml
SN368-2	洗涤液	250ml ×2
SN368-3	免疫荧光染色封闭液	50ml
SN368-4	NF-κB p65抗体	6ml
SN368-5	抗兔Cy3	6ml
SN368-6	细胞核染色液(DAPI)	50ml
SN368-7	抗荧光淬灭封片液	10ml
—	说明书	1份

保存条件：

固定液和细胞核染色液-20℃保存，其余试剂均4℃保存，半年有效。其中抗兔Cy3和细胞核染色液需避光保存。

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NF-κB p65抗体和抗兔Cy3。回收后至少可以重复使用10次。
- 需使用可以观察红色荧光和蓝色荧光的荧光显微镜。
- 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：

- 吸除培养液，用PBS洗涤1次。
- 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，通常加入1ml固定液。
- 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，最后一遍洗涤完时吸尽洗涤液。
- 加入免疫染色封闭液，室温封闭1小时。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。
- 吸除免疫染色封闭液，加入NF-κB p65抗体，室温孵育1小时或4℃孵育过夜。
- 小心吸出NF-κB p65抗体到适当的容器内，4℃保存，留做下次使用。
- 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，最后一遍洗涤完时吸尽洗涤液。
- 加入抗兔Cy3，室温孵育1小时。抗兔Cy3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抗兔Cy3。
- 小心吸出抗兔Cy3到适当的容器内，4℃保存，留做下次使用。
- 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，最后一遍洗涤完时吸尽洗涤液。
- 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。
- 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，最后一遍洗涤完时吸尽洗涤液。
- 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。NF-κB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：

- 离心收集细胞，PBS洗涤1次。吸尽PBS后把细胞适当弹散。
- 加入固定液，轻轻悬浮细胞，固定5-15分钟。
- 离心，去除固定液。
- 加入洗涤液洗涤1次。
- 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。
- 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，最后一遍洗涤完时吸尽洗涤液。
- 转1.d。后续步骤同1.d起的步骤。

3. 对于组织切片：

- 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。
- 转1.b。后续步骤同1.b起的步骤。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
SN368	NF-κB激活—核转运检测试剂盒(兔多抗)	>50次
SN371	NF-κB激活—核转运检测试剂盒(小鼠单抗)	>50次

使用本产品的文献:

- Xu Z, Lin S, Wu W, Tan H, Wang Z, Cheng C, Lu L, Zhang X. Ghrelin prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity through TNF-alpha/NF-kappaB pathways and mitochondrial protective mechanisms. *Toxicology*. 2008 May 21;247(2-3):133-8.
- Zhuang X, Pang X, Zhang W, Wu W, Zhao J, Yang H, Qu W. Effects of zinc and manganese on advanced glycation end products (AGEs) formation and AGEs-mediated endothelial cell dysfunction. *Life Sci*. 2012 Jan 16;90(3-4):131-9.
- Zhuang XY, Zhang W, Pang XF, Wu WB, Qu WJ. Combined effect of total flavonoids from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. and zinc on advanced glycation end products-induced endothelial cell dysfunction. *Food Chemistry*, 2012Aug,133(3),906-911.
- Huang Z, Meng S, Wang L, Wang Y, Chen T, Wang C. Suppression of oxLDL-induced MMP-9 and EMMPRIN expression by berberine via inhibition of NF-κB activation in human THP-1 macrophages. *Anat Rec (Hoboken)*. 2012 Jan;295(1):78-86.
- Hu F, Yang S, Zhao D, Zhu S, Wang Y, Li J. Moderate extracellular acidification inhibits capsaicin-induced cell death through regulating calcium mobilization, NF-κB translocation and ROS production in synoviocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Jul 20;424(1):196-200.
- Pan H, Zhou W, He W, Liu X, Ding Q, Ling L, Zha X, Wang S. Genistein inhibits MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cell growth by inhibiting NF-κB activity via the Notch-1 pathway. *Int J Mol Med*. 2012 Aug;30(2):337-43.
- Cai J, Han Y, Ren H, Chen C, He D, Zhou L, Eisner GM, Asico LD, Jose PA, Zeng C. Extracellular vesicle-mediated transfer of donor genomic DNA to recipient cells is a novel mechanism for genetic influence between cells. *J Mol Cell Biol*. 2013 Aug;5(4):227-38.
- Ma GF, Chen S, Yin L, Gao XD, Yao WB. Exendin-4 ameliorates oxidized-LDL-induced inhibition of macrophage migration in vitro via the NF-κB pathway. *Acta Pharmacol Sin*. 2014 Feb;35(2):195-202.
- Chen Z, Liu Y, Sun B, Li H, Dong J, Zhang L, Wang L, Wang P, Zhao Y, Chen C. Polyhydroxylated metallofullerenols stimulate IL-1 β secretion of macrophage through TLRs/MyD88/NF-κB pathway and NLRP3 inflammasome activation. *Small*. 2014 Jun 25;10(12):2362-72.
- Xia Y, Weng B, Wang Z, Kang Y, Shi L, Huang G, Ying S, Du X, Chen Q, Jin R, Wu J, Liang G. W346 inhibits cell growth, invasion, induces cycle arrest and potentiates apoptosis in human gastric cancer cells in vitro through the NF-κB signaling pathway. *Tumour Biol*. 2016 April;37(4):4791-4801.
- Jin R, Xia Y, Chen Q, Li W, Chen D, Ye H, Zhao C, Du X, Shi D, Wu J, Liang G. Da032, an inhibitor of nuclear factor-κB activation, demonstrates selective antitumor activity on human gastric cancer cells. *Drug Des Devel Ther*. 2016 Mar 2;10:979-95.
- Chen S, Yin L, Xu Z, An FM, Liu AR, Wang Y, Yao WB, Gao XD. Inhibiting receptor for advanced glycation end product (AGE) and oxidative stress involved in the protective effect mediated by glucagon-like peptide-1 receptor on AGE induced neuronal apoptosis. *Neurosci Lett*. 2016 Jan 26;612:193-8.
- Xia Y, Weng B, Wang Z, Kang Y, Shi L, Huang G, Ying S, Du X, Chen Q, Jin R, Wu J, Liang G. W346 inhibits cell growth, invasion, induces cycle arrest and potentiates apoptosis in human gastric cancer cells in vitro through the NF-κB signaling pathway. *Tumour Biol*. 2016 Apr;37(4):4791-801.
- Hu Q, Ren X, Liu Y, Li Z, Zhang L, Chen X, He C, Chen JF. Aberrant adenosine A2A receptor signaling contributes to neurodegeneration and cognitive impairments in a mouse model of synucleinopathy. *Exp Neurol*. 2016 Sep;283(Pt A):213-23.
- Linghu K, Lin D, Yang H, Xu Y, Zhang Y, Tao L, Chen Y, Shen X. Ameliorating effects of δ-cineole on LPS-induced human umbilical vein endothelial cell injury by suppressing NF-κB signaling in vitro. *Eur J Pharmacol*. 2016 Oct 15;789:195-201.
- Sun B, Hu C, Yang Z, Zhang X, Zhao L, Xiong J, Ma J, Chen L, Qian H, Luo X, Shi L, Li J, Cheng X, Yin Z. Midkine promotes hepatocellular carcinoma metastasis by elevating anoikis resistance of circulating tumor cells. *ONCOTARGET*. 2017 May 16;8(20):32523-32535.
- Huang N, Xu Y, Zhou H, Lin D, Zhang B, Zhang Y, Pan D, Tao L, Liu X, Shen X. Essential Oil from *Fructus Alpiniae Zerumbet* Protects Human Umbilical Vein Endothelial Cells In Vitro from Injury Induced by High Glucose Levels by Suppressing Nuclear Transcription Factor-Kappa B Signaling. *MED SCI MONITOR*. 2017 Oct 4;23:4760-4767.
- Ji CL, Jiang H, Tao MQ, Wu WT, Jiang J, Zuo J. Selective regulation of IKKβ/NF-κB pathway involved in proliferation inhibition of HFLS-RA cells induced by 1,7-dihydroxyl-3,4-dimethoxyxanthone. *Kaohsiung J Med Sci*. 2017 Oct;33(10):486-495.
- Zou C, Li W, Pan Y, Khan ZA, Li J, Wu X, Wang Y, Deng L, Liang G, Zhao Y. 11 β -HSD1 inhibition ameliorates diabetes-induced cardiomyocyte hypertrophy and cardiac fibrosis through modulation of EGFR activity. *ONCOTARGET*. 2017 Oct 24;8(56):96263-96275.
- Shen CY, Jiang JG, Huang CL, Zhu W, Zheng CY. Polyphenols from Blossoms of *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl. Show Significant Anti-Complement and Anti-Inflammatory Effects. *J AGR FOOD CHEM*. 2017 Oct 18;65(41):9061-9068.
- Shen CY, Jiang JG, Zhu W, Ou-Yang Q. Anti-inflammatory Effect of Essential Oil from *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl. *J AGR FOOD CHEM*. 2017 Oct 4;65(39):8586-8594.
- Zhang J, Yang X, Wang H, Zhao B, Wu X, Su L, Xie S, Wang Y, Li J, Liu J, Liu M, Han F, He T, Zhang W1, Tao K, Hu D. PKCζ as a promising therapeutic target for TNF α -induced inflammatory disorders in chronic cutaneous wounds. *Int J Mol Med*. 2017 Nov;40(5):1335-1346.
- Yang N, Gao J, Cheng X, Hou C, Yang Y, Qiu Y, Xu M, Zhang Y, Huang S. Grape seed proanthocyanidins inhibit the proliferation, migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma cells through suppressing the protein kinase B/nuclear factor-κB signaling pathway. *Int J Mol Med*. 2017 Dec;40(6):1881-1888.
- Zuo J, Yin Q, Wang YW, Li Y, Lu LM, Xiao ZG, Wang GD, Luan JJ. Inhibition of NF-κB pathway in fibroblast-like synoviocytes by α-mangostin implicated in protective effects on joints in rats suffering from adjuvant-induced arthritis. *Int Immunopharmacol*. 2018 Mar;56:78-89.