

Ki67细胞增殖检测试剂盒（ICF/FACS法）

产品货号：26670

产品规格：20 tests

产品简介：

Ki67蛋白是细胞周期相关的一种核蛋白，主要表达于细胞增殖分裂的各个时期（G1、S、G2和M期），但是在静息的细胞（G0期）中不表达。

Ki67常用于检测肿瘤细胞的生长指数（免疫组化法利用计算细胞总数中的Ki67阳性细胞数所占比例得到Ki67指数）。

产品组成：

产品名称	20 tests	保存条件
anti-Ki67 antibody (1μg/μL)	25 μL	-20°C
FITC-羊抗兔IgG	30μL	2-8°C，避光

试剂盒以外自备仪器和试剂：

微量移液器、低速离心机、平板摇床、微量移液器、荧光显微镜、流式细胞仪、1.5mL Micro-tube、Tween-20、TritonX-100、去离子水、PBS（10mM,pH7.4）、30%过氧化氢溶液、乙醇、PI染色液（1mg/mL）、BSA、RNase、胰蛋白酶-EDTA细胞消化液

操作步骤：(仅供参考)：

（一）溶液配置：

- 1%BSA洗涤液：0.1mg BSA溶于10mL PBS，按实验用量配制所需要的体积量。
- 抗体孵育液（0.5% Tween-20/1%BSA/PBS）：0.05mLTween-20，0.1mg BSA溶于9.95mL PBS。

（二）样本前处理

1. 去除细胞培养基，使用PBS将细胞清洗1次，使用胰酶消化液消化并2000rpm离心收集细胞，保证每管细胞数在 10^6 个。
2. 用0.3mLPBS轻轻的重悬细胞，然后慢慢加入0.7mL预冷的100%乙醇，轻轻混匀，4°C存放1h，如需保存可4°C保存2星期。
3. 2000rpm离心收集细胞，完全洗去上清。
4. 使用配制好的1%BSA溶液150μL清洗细胞2次。

（三）免疫反应检测

1. 使用100μL抗体孵育液（0.5%Tween-20/1%BSA/PBS）重悬细胞，加入1μL anti-Ki67antibody(1μg/ 10^6 个细胞)，室温孵育1小时。
2. 2000rpm离心收集细胞，用150μL1%BSA溶液清洗2次。
3. 2000rpm离心收集细胞，用50μL抗体孵育液重悬，加1μL(1.5μg/ 10^6 个细胞)FITC-羊抗兔IgG，室温孵育30分钟。2000rpm离心收集细胞，使用150μL 1%BSA溶液清洗2次，2000rpm离心收集细胞。
4. 配制含有终浓度为10μg/ml RNaseA和20μg/ml PI的PBS，吸取0.5mL加入离心管中，轻轻重悬细胞。
5. 室温避光孵育20min，2000rpm离心收集细胞，加入150μL1%BSA溶液清洗2次。
6. 将细胞转移至流式管中重悬，即可流式检测；或放于荧光显微镜下观察。

注意事项：

1. 本试剂盒操作步骤中，收集细胞的离心条件为2,000rpm，时间为5min。
2. 可渗透化处理细胞后细胞浓度大约为 10^6 ，样品可以4°C储存于乙醇中2个星期。
3. 流式细胞检测时需要设立对照试验：
 - ①只用PI染细胞
 - ②只用羊抗兔IgG-FITC染细胞
 - ③未染色的细胞组。

效 期：12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com