

细胞有丝分裂指数分析试剂盒 (FM、HCS)

说明书修订日期: 2015.07.13

Cat number: KGAF008

Store at -20°C, 避光

For Research Use Only (科研专用)

一、产品描述

有丝分裂, 又称为间接分裂, 由 W. Fleming (1882) 年首次发现于动物及 E. Strasburger 发现于植物。特点是有纺锤体染色体出现, 子染色体被平均分配到子细胞, 这种分裂方式普遍见于高等动植物 (动物和高等植物)。有丝分裂是真核细胞分裂产生体细胞的过程。

有丝分裂指数是用来表示细胞倍增速度的指数。它可以反映在给定时刻进入有丝分裂的细胞占所有细胞的比例 (%)。

组蛋白是真核生物中呈强碱性的蛋白。组蛋白可以被乙酰化、磷酸化、甲基化和泛素化修饰。这些修饰会改变染色质的空间结构, 从而在基因转录调控、染色体装配等过程中起重要作用。Histone H3 的 Ser10, Ser28 和 Thr11 都会发生磷酸化修饰。Histone H3 的这些磷酸化和有丝分裂或减数分裂过程中的染色质浓缩密切相关。

凯基有丝分裂指数试剂盒通过荧光标记磷酸化 Ser28 位点的 H3 组蛋白, 标记进入有丝分裂 M 期的细胞, 搭配核酸荧光染料, 从而计算这些阳性细胞在总细胞数中的占比。本试剂盒适用于荧光显微镜和高内涵分析。

二、产品包装

组 份	Cat: KGAF008 (100T)	储存条件
试剂 A: 细胞核染料 (蓝)	10 mL	-20°C, 避光长期保存
试剂 B: 兔多抗 Histone H3.1 (pSer28)	1.0µg/µL, 100µL	
试剂 C: Alexa Fluor® 488 山羊抗兔 IgG (H+L)	1.5µg/µL, 35µL	

客户自备试剂:

1. 磷酸盐缓冲液(PBS)
2. 细胞培养基
3. 多聚甲醛 16%水溶液
4. Triton® X-100
5. 牛血清白蛋白(BSA)

三、操作说明

1. 染色液制备: 以下染液请在使用前新鲜配制, 以下方法针对 96 孔板培养细胞设计。

制备固定液: 1.5mL 的 16%多聚甲醛水溶液加入到 4.5mL PBS 中, 得到 4%的多聚甲醛固定液。

制备促渗液: 加 15µL 的 Triton® X-100 到 6mL 的 PBS 中。

制备封闭液: 溶解 0.25g 的 BSA 到 25mL 的 PBS 中, 混匀。

试剂 B 工作液 (一抗工作液): 按 1: 100 比例, 将 Histone H3.1 (pSer28) 抗体溶液 (试剂 B) 加到相应体积的封闭液中。

试剂 C 工作液 (二抗/工作液): 每 1mL 的封闭液中加入 4µL 的 Alexa Fluor® 488 山羊抗兔 IgG (试剂 C), 配成二抗工作液。

2. 关于 96 孔细胞培养板染色操作（以 A549 细胞为例）:

- 2.1 处理细胞，保证细胞培养液的总体积在 100 μ L。（注：活细胞培养中 DMSO 浓度不要超过 0.5%）
- 2.2 细胞处理完毕后不要移去培养基。
- 2.3 加入 50 μ L 的试剂 A 工作液，总体积为 150 μ L，正常细胞培养条件孵育 30 分钟。
- 2.4 移去培养基
- 2.5 每孔加入 100 μ L 固定液，室温孵育 15 分钟。
- 2.6 移去固定液，PBS 洗涤一次。
- 2.7 以 100 μ L 促渗液每孔，室温孵育细胞 15 分钟。
- 2.8 移去促渗液，PBS 洗涤一次。
- 2.9 每孔加入 100 μ L 的封闭液，室温孵育 60 分钟，移去封闭液。
- 2.10 加入 50 μ L 一抗工作液，室温孵育 60 分钟。
- 2.11 移去一抗工作液，PBS 洗涤三次。
- 2.12 加入 50 μ L 的二抗/复染工作液，室温避光孵育 60 分钟。
- 2.13 移去二抗/复染工作液，PBS 洗涤三次。
- 2.14 加入 100 μ L 的 PBS 每孔，上机分析。

凯基相关产品（详见凯基网站 <http://www.keygentec.com.cn>）

- keyFluor488-EdU 法细胞增殖检测试剂盒（成像）
- keyFluor488-EdU 法细胞增殖检测试剂盒（流式）
- keyFluor647-EdU 法细胞增殖检测试剂盒（流式）
- keyFluor647-EdU 法细胞增殖检测试剂盒（成像）
- APC-BrdU 细胞增殖检测试剂盒（ICF/FACS 法）
- FITC-BrdU 细胞增殖检测试剂盒（ICF/FACS 法）
- PE-BRDU 细胞增殖检测试剂盒（ICF/FACS 法）
- PCNA 细胞增殖检测试剂盒（IHC 法）
- Ki67 细胞增殖检测试剂盒（IHC 法）
- 磺酰罗丹明 B/SRB 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
- Brdu 细胞增殖检测试剂盒（IHC 法）
- PCNA 细胞增殖检测试剂盒（ICF/FACS 法）
- Ki67 细胞增殖检测试剂盒（ICF/FACS 法）
- 细胞有丝分裂指数分析试剂盒(FM/HCS 法)