

# 免疫荧光染色报告

## Immunofluorescence

### IF 鉴定检测报告

#### 样品信息

样品编号：

客户样本编号	公司编号
大鼠肾小球内皮细胞	

样品数量：1

样品性状：细胞系

检测项目：免疫荧光鉴定

送检单位：厦门逸漠生物科技有限公司

# 说明

1. 本报告仅对所提供样本的检测结果负责，不代表其他样本或批次。
2. 报告中的检测结果及检测单位名称未经授权，不得用于任何形式的广告、评比、认证或商业宣传。
3. 如对本报告内容有异议，请在收到报告之日起十五个工作日内以书面形式提出，逾期将不予受理。
4. 对于任何未经授权的涂改、增删或未加盖检测单位正式印章的报告复印件，本单位均不承担任何法律责任。
5. 本报告的检测结果仅供参考，最终解释权归检测单位所有。
6. 报告一旦发出，未经检测单位书面同意，不得以任何形式进行复制或分发。
7. 请妥善保管本报告，如有遗失或损坏，检测单位不负责重新出具。
8. 检测单位保留对本报告内容进行更新和修订的权利，以确保检测标准和方法的准确性和时效性。

签发日期：2024年10月13日



## 1. 摘要

本项目利用免疫荧光染色技术，采用细胞培养和组织样本处理试剂盒对客户提供的样本进行预处理，通过固定、渗透、封闭等步骤，对样本进行准备。接着，使用针对特定抗原的一抗进行孵育，随后利用荧光标记的二抗进行检测。通过荧光显微镜进行图像采集，使用专业的图像分析软件处理采集到的荧光图像，对荧光信号进行定性评估或定量分析，以确定抗原在样本中的表达情况和分布模式。

## 2. 样品编号

样品编号	样品描述
	大鼠肾小球内皮细胞

## 3. 实验材料描述

### 3.1 主要试剂

试剂名称	试剂来源	cat.No
T25 细胞培养瓶	Coming	430639
血球计数板	Marienfeld	Neubauer improved
24 孔板专用细胞爬片	Solarbio	YA0350
细胞培养孔板	上海卧宏生物科技有限公司	WHB-24
胎牛血清	Gibico	1414426
内皮细胞培养基 ( EndothelialCellMedium)	IMMOCELL	IMP-CM02
0.25%胰蛋白酶 ( 含	Gibico	1734858

0.02%EDTA )		
多聚甲醛 ( PFA )	Solarbio	P1110
DAPI	Solarbio	C0060
山羊血清	Solarbio	S9070
Vwf	proteintech	11778-1-AP
Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary antibody, Alexa Fluor 488	proteintech	SA00006-2
Triton X-100	Solarbio	T8200
Fluoromount-G 荧光封片 剂	SouthernBiotech	0100-01

### 3.2 主要仪器及器材

仪器名称	仪器来源	cat. No.
生物安全柜	济南鑫贝西生物技术有限公 司	BSC-1500 II A2-X
CO <sub>2</sub> 细胞培养箱	上海博讯实业有限公司	BC-J160S
荧光倒置显微镜	Nikon	DS-Ri2
高速冷冻离心机	Thermo Fisher	Multifuge X1R
电热恒温鼓风干燥箱	上海精宏实验设备有限公司	DHG-9123A

## 4. 实验步骤

### 4.1 细胞爬片

取 3 片玻璃片于 24 孔板中，每孔加入培养基 1mL，加入细胞 0.02million 个/孔。置培养箱 2h 或过夜。

## 4.2 细胞染色

(1) 吸去培养液，用 PBS 洗 1-2 遍。

(2) 固定

加入 4% PFA 于 4°C 固定 30min。用 PBS 洗 3×5min/次。也可最后一次不吸出 PBS，放 4°C 过夜。

(3) 破膜封闭

将玻片除去水分，置于培养皿支撑物上，玻璃片封闭液配置：0.5% Triton X-100 与 PBS 1:1 混合，再加 10% 血清，取 50uL 破膜封闭液滴于防水膜上，将玻片上有细胞的一面盖上 2h。

(4) 一抗孵育

一抗配制：抗体与 PBS 1:100 (200) 稀释。

破膜封闭后，取 50uL 一抗于防水膜上 (湿盒中)，将玻片 (有细胞的一面) 盖上置于 4°C (最多可放置一周)

(5) 二抗孵育

室温避光孵育二抗 (二抗:PBS=1:500) 2h 后，PBS 洗 3×5min/次，染 DAPI (DAPI:PBS=1:1000) 5min，PBS 洗 3×5min/次。

(6) 包埋

玻片上各滴 1 滴 Fluoromount-G，将有细胞的一面盖上。

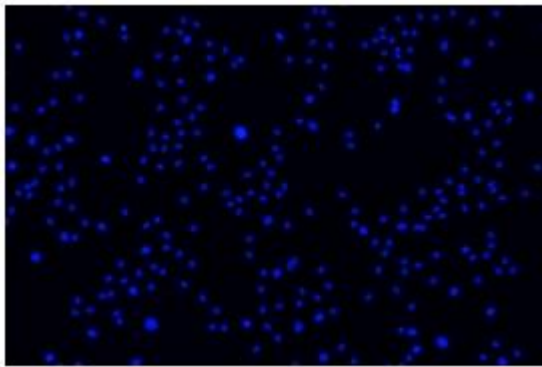
## 鉴定细胞为永生化细胞

### 4.3 拍照观察

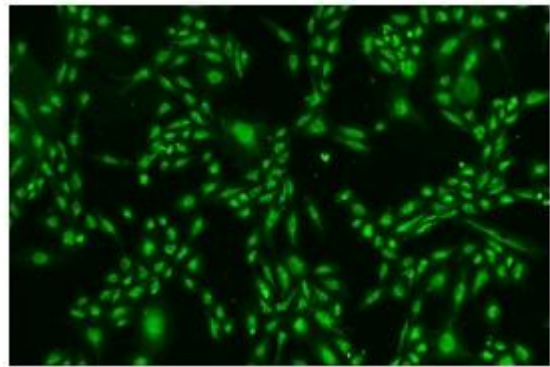
## 5. 实验结果

### 5.1 细胞免疫荧光鉴定结果：

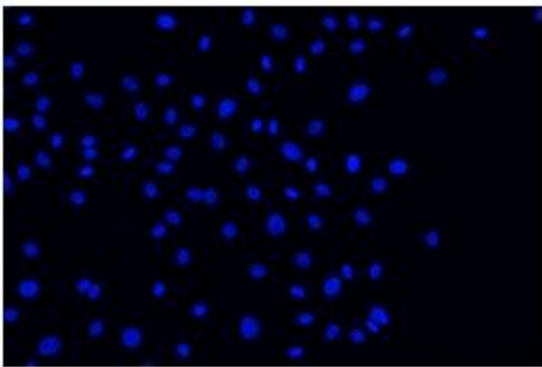
Vwf:



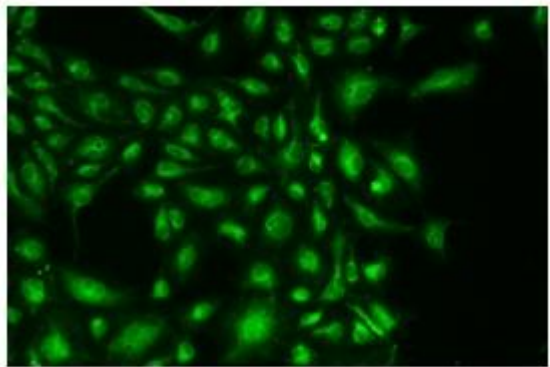
100X-DAPI



100X-Fluorescence



200X-DAPI



200X-Fluorescence

### 5.2 检验基本情况：

经免疫荧光鉴定，该细胞纯度达到 95%以上。