

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
人乳腺癌成纤维细胞永生化	

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7月11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
	人乳腺癌成纤维细胞永生化

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
人乳腺癌成纤维细胞永生化专用培养基	IMMOCELL	IM-H530-1
0.25%胰蛋白酶 (含 0.02%EDTA)	Gibico	1734858

厦门逸漠生物科技有限公司

多聚甲醛 (PFA)	Solarbio	P1110
DAPI	Solarbio	C0060
山羊血清	Solarbio	S9070
CD44	proteintech	15675-1-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 ₂ 细胞培养箱	上海博迅实业有限公司	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。

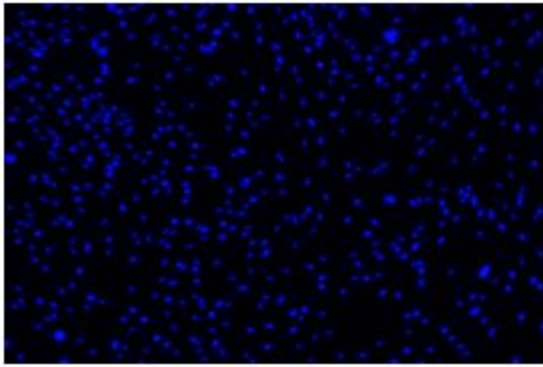
鉴定细胞为永生化细胞

4.3 拍照观察

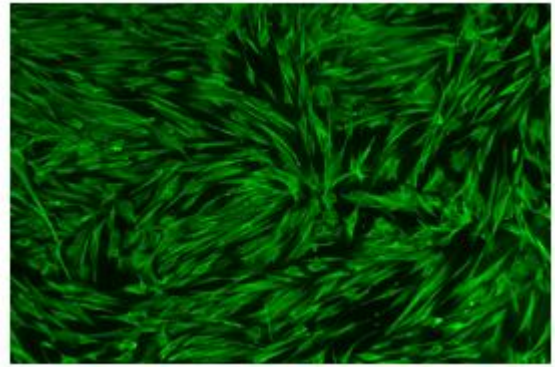
5. 实验结果

5.1 细胞免疫荧光鉴定结果：

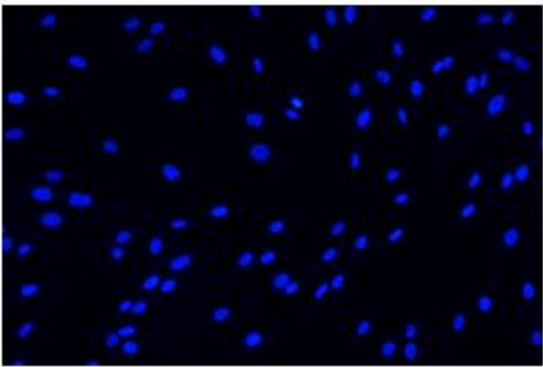
Vimentin:



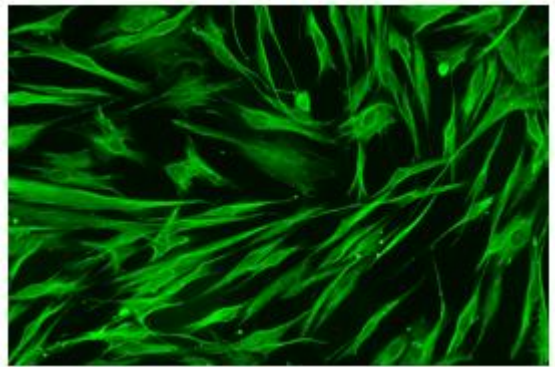
100X-DAPI



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 90%以上。