

免疫荧光鉴定报告

一. 样本信息

细胞名称：人脐静脉内皮细胞-永生化
英文名称：Human Umbilical Vein Endothelial Cells-Immortalized
货号：CIP-H001
样本类型：单层活细胞

二. 仪器、试剂

1. 仪器：

苏净安泰 BSC-1304IIA2 生物安全柜
奥林巴斯 CKX53 倒置荧光显微镜

2. 试剂：

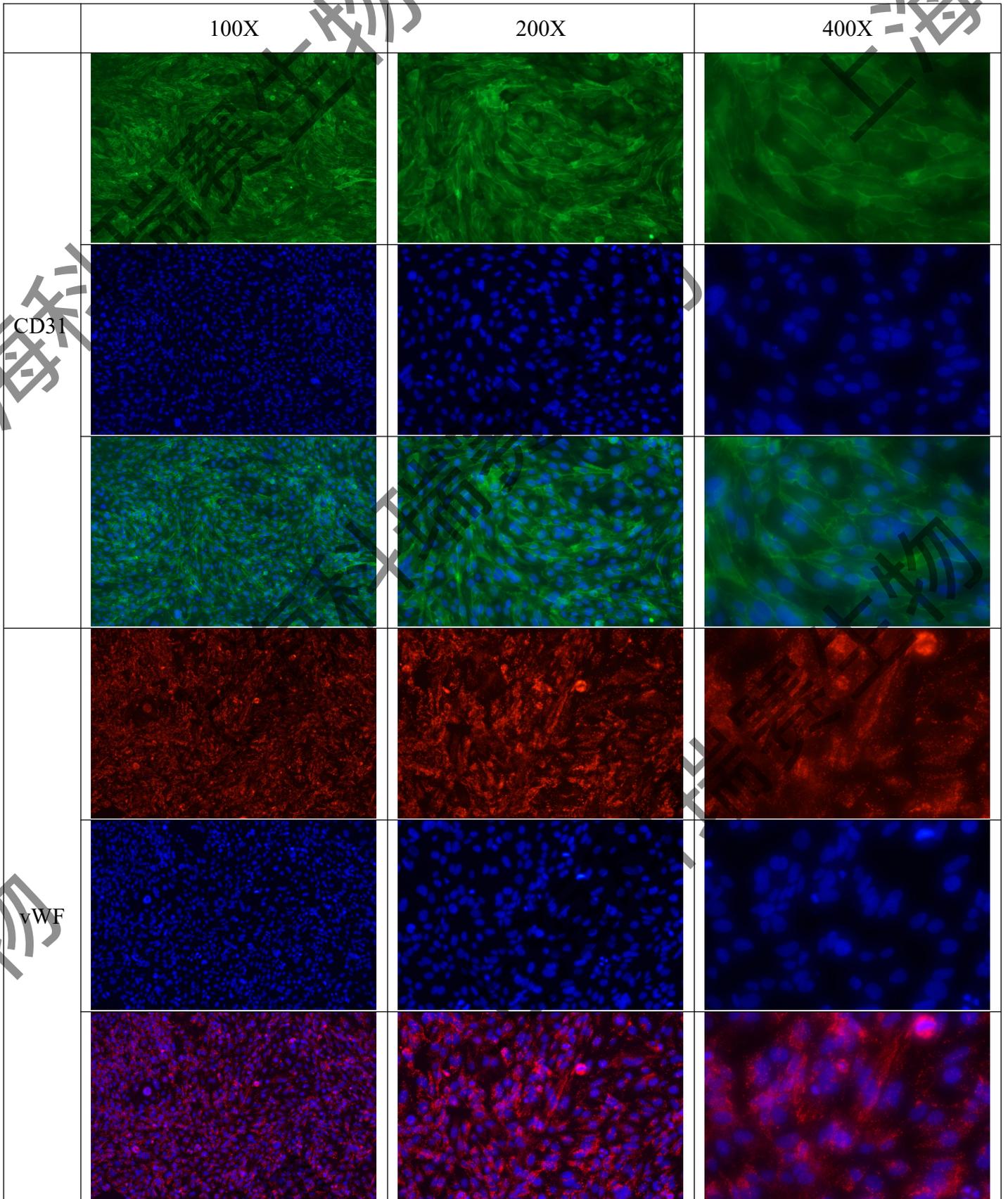
固定液：4%多聚甲醛
封闭液：1% BSA（PBS 配制）
通透液：0.2% Triton X-100（PBS 稀释）
洗涤液：1X PBST
一抗①：Anti-CD31 Rabbit mAb
一抗②：Anti-Von Willebrand Factor Rabbit mAb
二抗①：Goat Anti-Rabbit IgG (AF488)
二抗②：Goat Anti-Rabbit IgG (AF594)

三. 实验步骤

1. 固定细胞：弃掉培养基后 PBS 清洗两次，加入 4%的多聚甲醛常温固定 15 分钟,然后 PBST 清洗三遍；
2. （细胞表面蛋白无需通透）通透细胞：0.2% Triton X-100 室温处理 5 分钟，PBST 清洗三遍；
3. 封闭：1%BSA 室温封闭 1 小时；
4. 孵育一抗：每孔加 200uL 一抗工作液 4℃过夜；
5. 清洗一抗：PBS 清洗三次，每次 3 分钟，前三次加上 PBST 直接吸掉（清洗表面），后再加 PBST，静置 10 分钟（清洗核心）后吸掉；
6. 孵育二抗：每孔加入 200uL 二抗工作液，室温避光孵育 1.5 小时；
7. 清洗二抗：PBST 清洗三次，每次 3 分钟，最后使用纯水清洗；
8. DAPI 染核：每孔加入 200uL DAPI 工作液避光常温孵育 5 分钟，对标本进行染核，PBST 3 分钟 * 3 次洗去多余的 DAPI，最后每孔加入 200uL PBS 后采集照片。

*以上步骤以 24 孔板样本为例

四. 实验结果



五. 鉴定结论

CD31(PECAM1)及 vWF(Von Willebrand Factor)在内皮细胞中的表达定位:

CD31(PECAM1)表达在内皮细胞细胞膜, 在内皮细胞汇合时表达上调并富集在细胞间紧密连接处。

vWF(Von Willebrand Factor)在内皮细胞中合成后储存在 W-P 小体, 染色后呈点状定位于整个细胞质。

根据本次免疫荧光鉴定采集照片, CD31(PECAM1)及 vWF(Von Willebrand Factor)信号清晰, 定位准确, 阳性率均>90%。

报告人: 何俊

审核人: 李治海