

## Ki67

### Immunohistochemistry

<https://www.abcam.com/protocols/immunostaining-paraffin-frozen-free-floating-protocol>

#### 靶标概述

Ki67 通常在细胞分裂的 **G1 晚期**、**S 期**、**G2 期**和 **M 期**表达, 而在 **G0 期**不能检测到 Ki67 蛋白。  
(PMID:6206131)

以下有一些小贴士, 有助于获得理想的 IHC 实验结果:

样本固定	<ul style="list-style-type: none"> <li>理想的固定时间取决于组织块的大小和类型。对于大多数组织来说, 通常固定时间在 <b>18-24 小时</b>之间较为理想。</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>固定不足会导致组织切片因边缘染色而信号强, 中间未染上而无信号。</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>固定过度将会屏蔽抗原表位。抗原修复有助于克服屏蔽作用, 但是如果固定时间太长 (比如一个星期) 那么抗原修复也无济于事。</li> </ul>

以下有一些注意事项, 有助于获得更好的 IHC 实验结果:

- ✓ **抗原修复:** 热修复 110°C /15-30 分钟, 修复缓冲液为枸橼酸钠缓冲液 (10 mM Sodium Citrate, 0.05% 吐温- 20, pH 6.0); 或者酶解修复 (trypsin, proteinase K)。 (如果使用 PFA 固定, 抗原修复必不可少)
- ✓ **通透:** 0.2% Triton-X 的 PBS 洗涤 10 分钟

### Immunocytochemistry/Immunofluorescence

<https://www.abcam.com/protocols/immunocytochemistry-immunofluorescence-protocol>

#### 靶标概述

Ki67 蛋白定位在**染色体和细胞核**。因此推荐使用 **4% PFA** 固定细胞, 并且需要**通透细胞** (0.1% Triton-X 的 PBS 洗涤 5 分钟)。

以下有一些小贴士, 有助于获得理想的 ICC/IF 实验结果:

样本固定	<ul style="list-style-type: none"> <li>对于核蛋白, 通常推荐使用 <b>4% PFA</b>, 室温固定细胞 <b>20 分钟</b>。</li> </ul>
通透	<ul style="list-style-type: none"> <li>不要过度固定样本, 会降低信号。</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>对于核蛋白, 需通透处理细胞。推荐使用 <b>0.1% Triton-X PBS</b> 洗涤细胞 <b>5 分钟</b>。</li> </ul>

<b>蛋白功能</b>	<p>Ki67 对于细胞在有丝分裂时维持染色体分散于细胞质中很重要 (PMID: 27362226)。它主要是覆盖在有丝分裂时期染色体的表面 (PMID: 27362226)。Ki67 通过形成空间电荷和静电电荷屏障防止染色体塌缩成单个染色质:该蛋白具有高净电荷并作为表面活性剂, 分散染色体并使其具有独立的染色体活性 (PMID: 27362226)。主要与超螺旋 DNA 和 AT-富集区 DNA 结合 (PMID: 10878551)。它可能在染色质重组中发挥作用 (PMID: 24867636)。</p> <p>SwissProt: P46013</p>
<b>组织表达</b>	<p>Ki67 通常在细胞分裂的 G1 晚期、S 期、G2 期和 M 期表达, 而在 G0 期不能检测到 Ki67 蛋白。</p> <p>PMID: 6206131</p> <p>在有丝分裂 G2 期高表达。</p> <p>细胞分裂间期, 在核仁周围的纤维蛋白缺陷区形成纤维样结构</p> <p>PMID: 2674163 / PMID: 8799815</p>
<b>细胞定位</b>	<p>染色体和细胞核</p>
<b>异构体</b>	<p>人: 异构体 1: 319kD (预测) 异构体 2: 359kD (预测)</p> <p>小鼠: 异构体 1: 325kD (预测) 异构体 2-4: 351kD (预测)</p> <p>大鼠: 异构体 1: 343kD (预测)</p>
<b>修饰</b>	<p>磷酸化/高磷酸化</p> <p>高磷酸化形式不能与 DNA 结合</p> <p>PMID: 10502411 / PMID: 10653604</p>
<b>阳性对照</b>	<p><b>IHC</b>      人扁桃体组织 小鼠肿瘤组织、小鼠胚皮组织 大鼠食道、小肠和肝组织</p> <p><b>ICC</b>      HeLa 和 HAP1 细胞 大鼠心肌细胞</p>