

Immunohistochemistry Kit for Rabbit Primary Antibody

兔免疫组化（IHC）检测试剂盒

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Immunohistochemistry Kit for Rabbit Primary Antibody		
兔免疫组化（IHC）检测试剂盒	36312ES50	100 T

产品描述

IHC Kit for Rabbit Primary Antibody 可用于检测以兔单克隆或多克隆抗体为一抗的免疫组化实验，检测原理基于高特异性高亲和力的链霉亲和素-生物素结合：已固定或培养细胞的抗原与一抗形成抗原抗体复合物，生物素化二抗特异性结合上述复合物，经辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素特异性识别生物素（即抗原所在位置），最后经辣根过氧化物酶底物显色即可检测相应抗原。

本品可适用于多种类型样本，如石蜡包埋切片、冰冻切片、培养细胞涂片及血液标本等。

产品组分

组分	组分编码	组分名称	产品编号/规格	储存条件
Part I	36312-A	1×PBS 缓冲液（干粉，4L）	2L×2 瓶	室温
	36312-B	100×柠檬酸钠抗原修复液	32 mL	2-8°C
	36312-C	内源性过氧化物酶阻断剂（即用型）	5 mL	2-8°C
	36312-D	抗体稀释液（即用型）	5 mL	2-8°C
	36312-E	封闭用正常山羊血清工作液（即用型）	5 mL	2-8°C
	36312-F	生物素标记羊抗兔 IgG（即用型）	5 mL	2-8°C
	36312-G	辣根酶标记链霉卵白素工作液（即用型）	5 mL	2-8°C
Part II	36312-J	苏木素染液（即用型）	6 mL	室温
	36312-H	DAB kit (20×)显色液	0.5 mL	-20°C
	36312-I	DAB kit (20×)稀释液	0.5 mL	-20°C

运输和保存方法

冰袋运输。Part II, H,I 组分-20°C保存，其他组分 4°C保存，有效期 1 年。勿冰冻！

注意事项

- 1.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2.DAB是一潜在致癌物，使用时请注意自我防护。
- 3.检测样本时需同时做阴性对照和阳性对照。
- 4.本产品仅作科研用途！

准备试剂

二甲苯、乙醇、甲醇、去离子水、封片剂（Cat#36313）

使用方法

1.脱蜡水化:将石蜡切片置于新鲜二甲苯中浸泡15 min, 重复三次。去除多余的液体后, 依次置于无水乙醇、95%乙醇、90%乙醇、80%乙醇、70%乙醇, 各浸泡5 min, 蒸馏水(或自来水)冲洗5 min。用PBS缓冲液(试剂A, 将干粉溶解于2 L去离子水中)冲洗切片5 min, 重复三次。

2.抗原修复:将脱蜡水化后的组织切片置于烧杯(或修复盒)中的耐高温塑料切片架上, 加适量修复液1×柠檬酸钠抗原修复液(试剂B, 将100×柠檬酸钠抗原修复液加去离子水稀释成1×柠檬酸钠抗原修复液), 液面要浸过切片组织一定高度, 将修复盒置于沸水中煮沸修复15 min后取出玻片, 自然凉至室温。用PBS缓冲液冲洗切片5 min, 重复三次。注意: 抗原修复时, 修复液务必保证切片始终浸泡在液体中, 一般情况: 修复液的量约为800 mL/1架。

3.阻断内源性过氧化物酶:用吸水纸擦干玻片, 免疫组化笔在组织周围画圈, 滴加50 μL内源性过氧化物酶阻断剂(试剂C)到切片组织上以阻断内源性过氧化物酶, 室温孵育30 min, 用PBS缓冲液冲洗切片5 min, 重复三次。

4.血清封闭:用吸水纸擦干玻片, 滴加50 μL正常山羊血清工作液(试剂E), 37°C封闭20 min, 以减少非特异性染色。

5.一抗孵育:用抗体稀释液(试剂D)将一抗原液稀释成工作液, 用吸水纸擦干玻片组织周围的液体, 滴加适量抗体工作液, 置于孵育盒4°C孵育过夜或37°C孵育1h-2h。

6.复温:4°C过夜后从冰箱拿出样本, 在室温下孵育15 min复温(抗体孵育为4°C过夜选用此步骤, 如室温孵育直接进入下一步清洗)。用PBS缓冲液冲洗切片5 min, 重复三次。

7.二抗孵育:吸水纸擦干切片后滴加50 μL生物素标记的羊抗兔IgG(试剂F), 37°C孵育20 min, 用PBS缓冲液冲洗切片5 min, 重复三次。

8.三抗孵育:吸水纸擦干切片后滴加50 μL辣根酶标记的链酶卵白素孵育(试剂G), 37°C孵育20 min, 用PBS缓冲液冲洗切片5 min, 重复三次。

9.显色:甩去 PBS 缓冲液, 吸水纸擦干切片; 每张切片滴加新鲜配制的DAB工作液50 μL(试剂H: 试剂I: 试剂A=1:1:18比例配置), 孵育3-5 min, 光学显微镜下观察染色结果, 切勿显色过深; 显色后用自来水冲洗切片终止显色。

【注】:1. DAB显色液需现配现用, 避光放置, 且在30 min内使用。

2.可根据需要一次染多张切片, 各种试剂量按照上述比例放大即可。

10.复染:滴加适量苏木素染液(试剂J)复染, 孵育1-5 min, 自来水冲洗5 min, 滴加盐酸酒精分化液分化30 sec, 自来水冲洗。

11.脱水封片:将玻片依次置于70%乙醇、80%乙醇、90%乙醇、95%乙醇、无水乙醇, 各浸泡5 min, 再将玻片放入二甲苯中浸泡15 min, 重复三次。玻片取出来稍晾干, 用中性树脂封片。

12.结果判定:

在光学显微镜下对染色的切片观察并判断。苏木素染细胞核为蓝色, DAB显色的阳性表达为棕黄色。