

## 抗鼠/兔通用型免疫组化检测试剂盒

### 产品说明

该免疫组化试剂盒利用最新的聚合技术将多个过氧化物酶（HRP）分子及抗鼠及抗兔免疫球蛋白（IgG）偶联到多聚物上，形成的聚合物（二抗）具有放大信号增加敏感度、减少非特异性背景特点。与兔或者鼠一抗进行搭配使用，结合后再与 DAB 反应，可得棕色显色。该反应体系不含生物素和链霉亲和素，不受内源性生物素影响，背景极低；只需要二步反应，即可完成实验过程。

### 产品列表

编号	名称	规格
1	山羊抗兔/鼠 HRP 标记聚合物	1ml
2	DAB 原液 50×	50μl
3	DAB 稀释液	2.5ml (1.25ml × 2)

### 产品应用

#### DAB 工作液配制：

实验前，将 DAB 原液与 DAB 稀释液按照 1：50 比例配制本次实验所需要的用量，混匀后避光备用。

#### 实验步骤：（以石蜡切片染色程序为例）

- 1) **将石蜡切片脱蜡至水：**先将切片置于二甲苯中 10 分钟，2 次。然后依次在 100%，95%，80%和 60% 乙醇，每级放置 5 分钟。再用蒸馏水浸洗 3 次，每次 3 分钟。
- 2) **抗原修复：**根据抗原抗体情况，必要时对切片进行抗原热修复：加入柠檬酸缓冲液后，将切片放置微波炉，中火修复 2 次，每次 5 分钟。结束后在柠檬酸缓冲液自然冷却，35 分钟。然后用 TBS 冲洗 3 次，每次 1 分钟。

- 3) 加入 3% $H_2O_2$ ，室温 10 分钟以灭活内源性酶。TBS 冲洗 3 次，每次 1 分钟。
- 4) **封闭**：用 TBS 制备 5%封闭血清，室温 1 小时。注意血清来源种属要与二抗来源种属一致（山羊血清）。（如无合适血清，可用 PBS（或 TBS）制备 5%BSA）
- 5) **孵育一抗**：滴加适当稀释的一抗（兔或鼠一抗），37℃1~2 小时或 4℃过夜。TBS 冲洗 3 次，每次 1 分钟（一抗的稀释度、孵育时间、温度与染色强度、背景有直接关系。一般来说，阳性染色强度不够时，可提高一抗浓度和延长孵育时间；背景过高时，可降低一抗浓度和缩短孵育时间。）
- 6) **孵育二抗**：滴加 50-100  $\mu$ L 抗兔/鼠 HRP 标记聚合物，37℃孵育 30 分钟，TBS 冲洗 3 次，每次 1 分钟。
- 7) **DAB 显色**：滴加预制好的显色剂 **DAB 工作液** 50-100 微升，室温孵育 5-10 分钟，或者镜下控制反应时间。蒸馏水洗涤。
- 8) 苏木素复染 2-3 分钟，然后蒸馏水冲洗。
- 9) 各级酒精（60-100%）脱水，每级 5 分钟。取出后置于二甲苯 10 分钟，2 次。用封片胶封片、显微镜观察。

**备注**：如果冰冻切片直接染色结果不理想时，可以参照石蜡切片对切片进行热修复，方法与石蜡切片 2-8 步骤相同。

### 产品保存：

该试剂盒应在 2-8 度保存，并在有效期（一年）内使用，切忌反复冻融。

### 注意事项：

1. 在抗原修复及后续免疫组化染色过程中都需避免组织切片干燥，保持湿润；
2. 良好染色效果的获得很大程度上取决于标本制备和正确的实验方法，建议每批实验设置阴阳性对照；
3. 本说明书所提供的操作方法仅供参考，如遇特殊情况需要根据实际情况进行调整。