

IHC*easy*

Ready-to-Use IHC Kit

欢迎使用IHCeasy 免疫组化试剂盒

本试剂盒包含：



本试剂盒不包含



图例：



注意



降温



防止或谨慎



升温



操作重复多次



操作计时



滴加液体

重要信息：

警告：使用二甲苯时，请采取适当的防护措施。吸入或接触二甲苯对身体有害。

- 直接接触会刺激皮肤和眼睛。
- 吸入二甲苯会刺激鼻喉并引起咳嗽或气喘。
- 曝露可能导致头痛、头晕、眩晕或休克。
反复曝露会影响注意力、记忆力、视觉和肌肉协调性。
- 操作二甲苯时请采取个人防护装备，如手套、防护服、护目镜并使用通风设备。
- 妥善处理使用完的二甲苯和试剂盒废弃物。

IHCeasy试剂盒使用技巧

为了达到最佳的使用效果，我们建议：

1. 使用滴瓶滴加液体时，可以用瓶尖引导液体分散开并均匀盖在组织上，如果组织面积较大无法完全覆盖，可以额外多加1-2滴液体。
2. 使用50x的抗原修复液和20x的洗涤液时，每次取用前计算或大致估计需要的量进行取用，剩下的以母液状态保存。请注意工作液的保存期比母液短。
3. 由于工作时间安排原因需要中途设置停点的，我们建议可以将封闭过程在4度进行数小时或过夜。
4. 如果实验中没有使用免疫组化笔，建议滴加试剂时尽可能平放切片防止液体流走。

Step 0: 脱蜡和水化

您需准备:



染缸



切片样本
(做好标记)



二甲苯



酒精

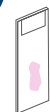


纯水

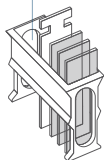


切片篮

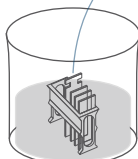
1.1



⚠ 做好标记



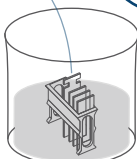
1.2



二甲苯

x2 重复一次
⌚ 20 min.

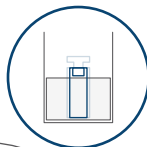
1.3



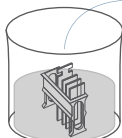
100% 乙醇

x2 重复一次
⌚ 5 min.

⚠ 液面高于组织

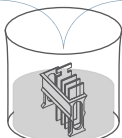


2.1



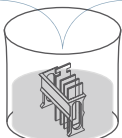
95% 酒精

⌚ 5 min.



80% 酒精

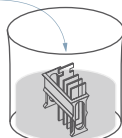
⌚ 5 min.



60% 酒精

⌚ 5 min.

2.2



纯水

x2 重复一次
⌚ 1 min.

Step 0: 脱蜡与水化

操作步骤:

1.1 将组织切片样本用不溶于二甲苯或乙醇的笔作好标记，将切片放进切片篮或染缸架上。

* 请务必使用不溶于二甲苯或酒精的笔作标记，石墨芯铅笔也可。

1.2 将组织切片浸泡在二甲苯中20分钟，然后在另一缸中重复一次。两次二甲苯都用新鲜的。

1.3 将组织切片浸泡在100%酒精中5分钟，然后在另一缸中重复一次。两次酒精都用新鲜的。

2.1 将组织切片浸泡依次在下列缸中浸泡5分钟

- 95% 酒精
- 80% 酒精
- 60% 酒精

*小贴士: 在此步等待过程中，可以准备下一步的抗原修复液并预先加热（参考下一页）

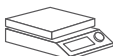
2.2 将组织切片用纯水润洗两次，每次一分钟，且使用新鲜纯水。

Step 1: 抗原修复

您需准备：



烧杯（带盖）



加热设备
（如电炉）



盒内抗原修复
液（50x母液）



纯水



温度计



水化好的切片

1

⚠ 1:50 稀释

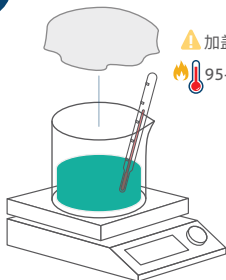


1X 抗原修复液

2

⚠ 加盖

🔥 95-100°C

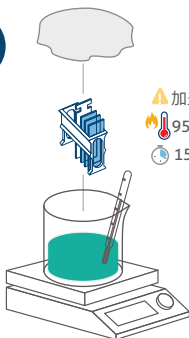


3

⚠ 加盖

🔥 95-100°C

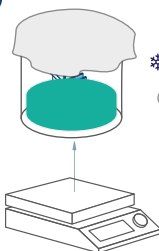
🕒 15-20 min.



4

❄ 室温

🕒 40 min.



Step 1: 抗原修复

操作步骤：

1. 用纯水将试剂盒中的抗原修复液Antigen Retrieval Buffer 50x 母液(部件号HC001)稀释至1x。

*在1L烧杯中500mL 的1x 抗原修复液可以够1-2个切片篮的用量。工作液每次按需配制。

2. 用电炉将1x 抗原修复液加热至95°C-100°C。

* 烧杯上请加盖或用锡箔盖住减少液体蒸发。

3. 将切片篮放入加热好的抗原修液中，保持温度不变加热15-20分钟。

4. 关闭电炉，将烧杯从电炉上取下，于温室自然冷却35-40分钟。

Step 2: 封闭

您需准备：



准备好的切片



纯水



盒内洗涤液
(20x母液)



洗涤缸



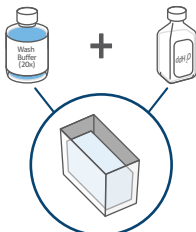
组化笔
(可选)



盒内封闭液

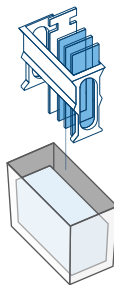
1

▲ 1:20稀释

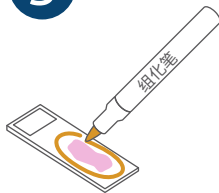


1X 洗涤液

2



3



4.1

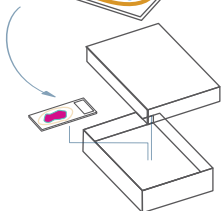


▲ 覆盖完全
⊘ 不要有气泡
💧 2-4 滴

4.2

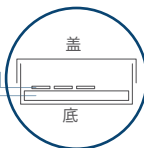


▲ 吸去组织周边
多余液体
⌚ 孵育30min.



⌚ 30min.
🌡 室温

切片
湿海绵或吸水纸



盖

底

Step 2: 封闭

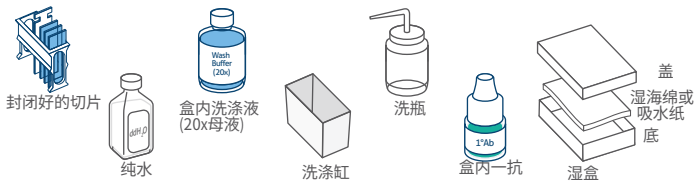
操作步骤：

*注意：本试剂盒已验证过无需灭活过程。如需要灭活内源性过氧化物酶活性，推荐用3% H_2O_2 灭活10分钟。如全程使用本试剂盒则无需这一步。

1. 用纯水将试剂盒中的洗涤液母液Wash Buffer 20x (部件号HC002)稀释至1x 。
2. 将切片用纯水润洗再简单浸泡于100 mL 1x 洗涤液洗涤。
3. 取出切片擦去组织周边多余液体，用组化笔在组织周围圈出组织轮廓。此步可选做。
- 4.1. 将封闭液(部件号HC003)滴加2-4滴在切片上，用滴瓶滴头引导液体均匀分布并盖住全部组织，防止产生气泡。室温放置于湿盒内水平静置30min.。
- 4.2 弃去封闭液擦去组织周边多余液体。

Step 3: 一抗反应

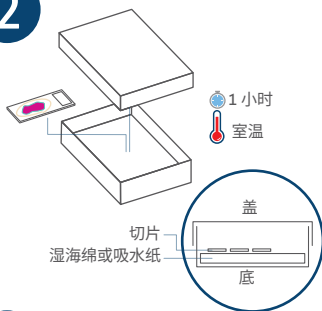
您需准备：



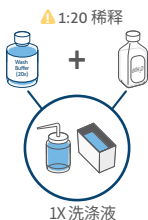
1



2



3.1



3.2



Step 3: 一抗反应

操作步骤：

1. 将即用型一抗(部件号HC004)滴加2-4滴在切片上，用滴瓶滴头引导液体均匀分布并盖住全部组织，防止产生气泡。

2. 室温放置于湿盒内反应60min.。

* 注意切片不可变干。

3.1 用纯水将试剂盒中的洗涤液Wash Buffer 20x母液(部件号HC002)稀释至1x 装至洗瓶或洗涤缸内。

3.2 用洗瓶润洗切片以洗去一抗，然后将切片浸泡于洗涤缸。重复润洗和浸泡过程一次。甩掉液体并吸去组织周围多余液体。

* 如果同一实验中用到不同的一抗，浸泡不能在同一洗涤缸中进行。

* 每次洗涤都需要用新鲜配置的洗涤液。

Step 4: 二 抗 反 应

您需准备：



一抗反应后的切片



纯水



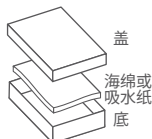
盒内洗涤液
(20x母液)



洗涤缸



盒内二抗



湿盒

盖

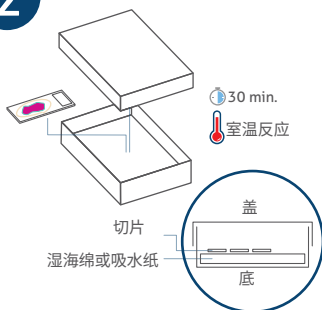
海绵或
吸水纸

底

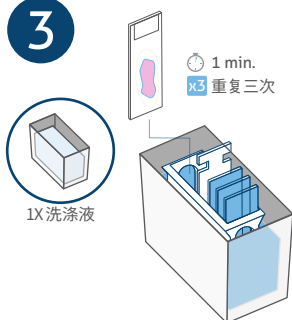
1



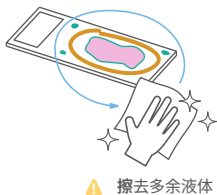
2



3



4



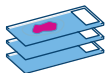
Step 4: 二 抗 反 应

操作步骤：

1. 将试剂盒内二抗(部件号HC005)滴加2-4滴在切片上，用滴瓶滴头引导液体均匀分布并盖住全部组织，防止产生气泡。
2. 室温放置于湿盒内反应60min。
* 注意切片不可变干。
- 3.1 用纯水将试剂盒中的洗涤液Wash Buffer 20母液(部件号HC002)稀释至1x 装至洗瓶或洗涤缸内。
- 3.2 用洗瓶润洗切片以洗去二抗，然后将切片浸泡于洗涤缸。重复润洗和浸泡过程一次。甩掉液体并吸去组织周围多余液体。

Step 5: 显色

您需准备：



二抗反应后的切片



盒内显色液A和B



EP管

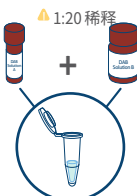


移液器



洗瓶

1



显色液

⚠ 同时复染液取出平衡

🔥 室温

2



⚠ 覆盖完全

🕒 5 min.

⚠ 如肉眼可见显色可提前终止

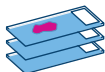
3



⚠ 甩去多余洗涤液

Step 6: 信号增强

您需准备：



显色后的切片



1X 洗涤液
洗涤缸



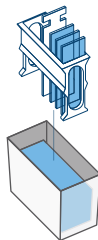
盒内增强剂

1



2-4 滴
🕒 5 min.

2



⚠ 甩去多余洗涤液

Step 5: 显色

操作步骤：

* 在复染前将复染液从盒内取出平衡至室温

1. 取出盒内显色液A组份（部件号HC006）和B组份(HC007), 用移液器按需取用配制工作液。A：B的体积为1：20。每张切片所需工作液约为30-80 μ l.
2. 用移液器取配好的工作液加至组织上，确保完全覆盖住组织，将切片水平放置在实验台上，室温静置5min.或至肉眼可见棕色产生。如果颜色显著则可提前用1x 洗涤液终止反应。
3. 用洗瓶盛装1x 洗涤液润洗切片，然后将切片放入纯水中浸泡30秒，再换水重复浸泡三次。
4. 甩去切片上的液体，擦去组织周边多余液体。

Step 6: 信号增强

操作步骤：

1. 取出盒内信号增强剂（部件号HC0008）滴加2-4滴在组织上，用滴瓶滴头引导液体均匀分布并盖住全部组织，防止产生气泡。将切片水平放置在实验台上，室温静置5min.。
2. 将切片用1x 洗涤液简单润洗，甩去切片上的液体，擦去组织周边多余液体。

Step 7: 复染

您需准备:



增强信号后的切片



盒内复染液



1X 洗涤液
洗涤缸



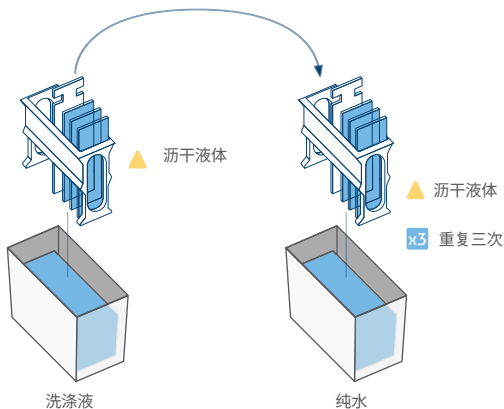
纯水
洗涤缸

1



2-4 滴
2-3 min.

2



Step 7: 复染

操作步骤：

1. 取出盒内复染液（部件号HC0009），滴加2-4滴在组织上，用滴瓶滴头引导液体均匀分布并盖住全部组织，防止产生气泡。将切片水平放置在实验台上，室温静置2-3min。
2. 用将切片用1x 洗涤液浸泡1分钟，然后再放入纯水中浸泡1min，再换水重复浸泡两次。

Step 8: 封片

您需准备:



复染好的切片



1X 洗涤液
洗涤缸



盒内封片剂



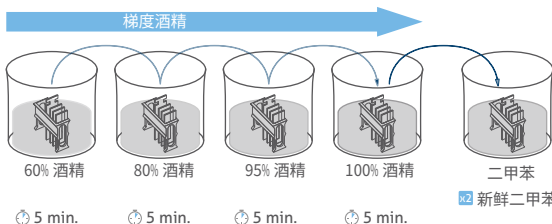
盖玻片



显微镜

1.1

1.2



✖2 新鲜二甲苯两次

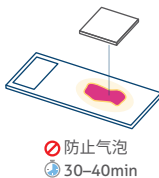
⌚ 5 min.

⚠ 沥干吸去多余液体

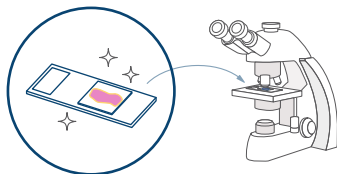
2



3



4



完成后的IHC切片

Step 8: 封片

操作步骤：

1.1 将切片依次放入下列溶液中浸泡，每个溶液中5min.。

- 60% 酒精
- 80% 酒精
- 95% 酒精
- 100% 酒精

1.2 将切片放入二甲苯中浸泡两次，每次5min. 并用新鲜二甲苯。沥干并吸去组织周围多余液体。

2. 将盒内封片剂（部件号HC0010）取出，每张切片组织上滴加1-2滴切片，确保盖住全部组织，一次只操作一张切片。

3. 小心将一张盖玻片盖在组织和封片剂上，小心操作防止切片与组织之间产生气泡。

4. 将切片水平放置通风处静置30-40min.充分晾干，最后在光学显微镜下观察结果。