SA1041-小鼠 IgG

SABC- CY3（POD）免疫组化双显色试剂盒

产品编号： SA1041

产品规格： 1/5KIT、2/5KIT、1KIT

保存条件： 4℃可保存一年，应避免冷冻。

试剂盒组份	体积	稀释比	用途	保存条件
正常山羊血清封闭液	1ml/2ml/5ml	1:10	用于组织切片的封闭	4℃可保存一年，应避免冷冻。
生物素化山羊抗小鼠 IgG	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	生物素化山羊抗小鼠 IgG	
SABC-CY3	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:200-800	SABC-CY3 荧光染料	
SABC-POD	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	链霉亲和素-过氧化物酶复合物	
注：另有四个滴瓶供稀释试剂用。稀释试剂推荐用0.02M PBS。				

工作原理：

SABC 是专为免疫组化和其他免疫检测而设计的。链霉亲和素同亲和素一样，对生物素分子有极高的亲和力，是一般抗原抗体亲和力的一百万倍，兼具高敏感性，低背景和操作简便的优点。CY3 比传统上的荧光更具有亲水性，因而不会因疏水性而引起非特异性吸附或聚合，从而背景更低。而且其敏感性和稳定性都更好。CY3 在 554nm 激化，在 568-574nm 发射荧光，呈鲜红色。免疫组化双显色试剂盒采用 CY3+过氧化物酶 POD 标记的链酶亲和素（SABC-CY3+POD），用户根据实验需要，可在同一张切片上用两套显示系统观。

实验客户需自备试剂：

1. 粘片剂 APES（AR0001）或 POLY-L-LYSINE（AR0003）。
2. EDTA修复液（AR0023）。
3. 0.02M PBS（pH7.2-7.6）配法（AR0030）：1000ml蒸馏水中加氯化钠9g, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 7g, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.5g。
4. 0.01M枸橼酸盐缓冲液（AR0024）：1000ml蒸馏水中加枸橼酸三钠（$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$）3g，枸橼酸($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 0.4g。
5. DAB 显色试剂盒（AR1027）。

A.石蜡片热修复染色步骤：

1. 石蜡切片，常规脱蜡至水。
2. 根据需要选择抗原修复方式及强度。可热修复、酶修复或不修复。
3. 热修复抗原：将切片浸入到 EDTA 修复液中，微波炉加热到沸腾后断电，间隔 5-10min

再修复 1-2 次，冷却。

4. 滴加用稀释后的正常山羊血清封闭液(稀释比 1:10)，37℃孵育 30min，甩干，勿洗。

5. 滴加适当稀释的一抗，37℃孵育 1-2 小时或 4℃过夜。PBS 冲洗，5min×3 次。

6. 滴加物素化山羊抗小鼠 IgG，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

7. 滴加 SABC-Cy3(参考效价 1:200-800)或 SABC-POD(参考效价 1:100)，37℃孵育 30min。PBS 冲洗， 5min×3 次。

8. 水溶性封片剂封片。

9. 荧光显微镜观察。

B.石蜡片酶消化染色步骤：

将 A 程序的第 4 步：滴加酶消化液室温 5-10min。酶修复可选用复合修复液(AR0022)、胰蛋白酶(AR1007)、 胃蛋白酶(AR1008)消化组织。蒸馏水洗 2min×3 次。

C.石蜡切片酶不消化/修复程序:

对于不需要微波修复或消化的抗原,省略 A 程序中的第 4 步即可。

D.细胞片的染色步骤：

1.爬片。圆形盖破片经防脱片剂处理（Poly-L-Lysine），灭菌，备用。贴壁细胞消化后加入放有盖玻片的 24 孔板中培养 1-2 天，使细胞贴壁。悬浮细胞则处理后直接涂片，使细胞贴附。

2. 固定。4℃预冷 4%多聚甲醛固定 20min 或冷丙酮固定 10min。蒸馏水洗 2min×3 次。

3. 3% H_2O_2 去离子水室温孵育 5-10min，以消除内源性过氧化物酶活性。PBS(AR0030)冲洗，5min×3 次。

4.打孔。0.25% Triton X-100 处理细胞 15min。（若采用丙酮固定则此步骤可省略）

5.酶消化处理室温 5-10min。酶消化可选用复合修复液(AR0022)、胰蛋白酶(AR1007)、 胃蛋白酶(AR1008)。蒸馏水洗 2min×3 次。

6.滴加用稀释后的正常山羊血清封闭液(稀释比 1:10)，37℃孵育 30min，甩干，勿洗。

7.滴加适当稀释的一抗，37℃孵育 1-2 小时或 4℃过夜。PBS 冲洗，5min×3 次。

8.滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

9.滴加 SABC-Cy3(参考效价 1:200-800)或 SABC-POD(参考效价 1:100)，37℃孵育 30min。PBS 冲洗， 5min×3 次。

10.水溶性封片剂封片。

11.荧光显微镜观察。