即用型 SABC - AP (兔IgG) 试剂盒

产品编号： SA1052 (适用于一抗来源为兔的组化实验)

产品规格： 1/2KIT 、1KIT

保存条件： 4℃可保存一年，应避免冷冻。

组分名称	规格	用途/用法	保存条件
5%BSA 封闭液	6ml/12ml	封闭液，即用型，直接滴加	4℃可保存一年，应避免冷冻。
二抗	6ml/12ml	生物素标记山羊抗兔 IgG，即用型，直接滴加	
SABC—AP	6ml/12ml	链酶亲和素—碱性磷酸酶，即用型，直接滴加	
显色剂A(×20)	0.5ml/1ml	BCIP/NBT 显色剂A，需稀释20倍	
显色剂B(×20)	0.5ml/1ml	BCIP/NBT 显色剂B，需稀释20倍	
中性核固红	6ml/12ml	复染，即用型，直接滴加	
水溶性封片剂	6ml/12ml	封片剂，即用型，直接滴加封片	

工作原理：

SABC 是专为免疫组化和其他免疫检测而设计的，用以显示组织和细胞中抗原分布。链霉亲和素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，等电点pI=6.0~6.5，对组织和细胞的非特异吸附很低。根据研究，SABC 大约可形成一百个左右的过氧化物酶和五十个左右的链霉亲和素所构成的复合物。大量的酶可以保证 SABC 具有很高的敏感性。所以 SABC 兼具高敏感性，低背景和操作简便等优点。博士德采用独特方法生产的 SABC 不仅有很强的信号放大作用，而且非常稳定。

实验客户需自备：

1. 防脱载玻片（AR1065） 。
2. 石蜡片：柠檬酸钠抗原修复液（AR0024）或EDTA抗原修复液 （AR0023）
   细胞片：复合修复液(AR0022) 、胰蛋白酶(AR1007) 或胃蛋白酶(AR1008)
3. TBS缓冲液（AR0031）
4. Triton X- 100（用于细胞片）

A.**石蜡片及冰冻片热修复染色步骤：**

1. 石蜡切片，常规脱蜡至水。冰冻片无需此操作，从第2步开始。

2. 抗原修复：根据需要选择抗原修复方式（热修复、酶修复）及强度。推荐使用微波热修复。操作方法：将切片浸入到抗原修复液中，微波炉加热至沸腾后保持2min，自然冷却至室温。

3. 滴加 5%BSA 封闭液，37℃孵育 30min，甩干，勿洗。

4. 滴加适当稀释的一抗，37℃孵育 1-2 小时或 4℃过夜。TBS 缓冲液洗涤，5min×3 次。

5. 滴加生物素标记山羊抗兔 IgG，37℃孵育 30min。TBS 缓冲液洗涤，5min×3 次。

6. 滴加 SABC—AP，37℃孵育 30min。TBS 缓冲液洗涤，5min×4 次。水洗 1 次。

7. 显色：BCIP/NBT 显色液A ：显色液B：蒸馏水按照1:1:20 比例配置（1ml显色液配置方法：1ml蒸馏水+50μl显色液A+50μl显色液B），现配现用，混匀后加至切片。镜下控制反应时间。蒸馏水洗涤。

9. 核固红轻度复染。水洗，干燥后水溶性封片剂封片(AR1018)。

10. 显微镜观察。

B.石蜡片及冰冻片酶消化染色步骤：

将 A 程序的第 2 步：滴加酶消化液室温 5- 10min。TBS 缓冲液洗涤，5min×3 次。

C.石蜡片及冰冻片不消化/不修复程序:

对于不需要微波修复或消化的抗原,省略 A 程序中的第 2 步即可。

D.细胞片的染色步骤：

1.取出细胞爬片，TBS缓冲液（也可用PBS缓冲液）浸泡5min，平衡至室温。

2. 破膜。使用0.25% Triton X- 100 处理细胞 15min，TBS 缓冲液洗涤，5min×3 次。

3.抗原修复。细胞片建议使用酶消化。滴加消化酶室温孵育 5- 10min，TBS 缓冲液洗涤，5min×3 次。

4.滴加5%BSA封闭液，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。TBS 缓冲液洗涤，5min×3 次。

6.滴加生物素标记山羊抗兔 IgG，37℃孵育 30min。TBS 缓冲液洗涤，5min×3 次。

7.滴加 SABC—AP，37℃孵育 30min。TBS 缓冲液洗涤，5min×4 次。水洗 1 次。

8.显色：BCIP/NBT 显色液A ：显色液B：蒸馏水按照1:1:20 比例配置（1ml显色液配置方法：1ml蒸馏水+50μl显色液A+50μl显色液B），现配现用，混匀后加至切片。镜下控制反应时间。蒸馏水洗涤。

9.核固红轻度复染。水洗，干燥后水溶性封片剂封片

10.显微镜观察。