

SA2004-人 IgG

SABC 免疫组化染色试剂盒

产品编号: SA2004(适于人自身抗体的检测)

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
兔血清封闭液	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。
生物素标记兔抗人 IgG	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	生物素标记兔抗人 IgG	
SABC	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	链霉亲和素-过氧化物酶复合物	
注：另有三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, 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 $pI=6.0\sim6.5$, 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, 低背景和操作简便的优点。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. 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。
3. 根据需要进行抗原修复方式及强度。可热修复、酶修复或不修复。



4. 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。
5. 滴加兔血清封闭液，37℃孵育 30min，甩干，勿洗。
6. 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。
7. 滴加生物素标记兔抗人 IgG，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
8. 滴加 SABC，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
9. 显色：镜下控制反应时间。显色剂可选 DAB (AR1027)或 AEC (AR1020)。自来水充分冲洗。
10. 苏木素(AR0005)复染，染色时间为 0.5-2min。脱水，透明。
11. 选用中性树胶，水溶性封片剂(AR1018)或其他适当的封片剂封片。

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。圆形盖玻片经防脱片剂处理（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% H₂O₂ 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.滴加兔血清封闭液，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.滴加生物素标记兔抗人 IgG，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
- 9.滴加 SABC，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
- 10.显色：镜下控制反应时间。显色剂可选 DAB (AR1027)或 AEC (AR1020)。自来水充分冲洗。
- 11.苏木素(AR0005)复染，染色时间为 0.5-2min。脱水，透明。
- 12.选用中性树胶，水溶性封片剂(AR1018)或其他适当的封片剂封片。