

免疫组化试剂盒（适用于兔/小鼠一抗）

中文名称： 免疫组化试剂盒（适用于兔/小鼠一抗）

英文名称： Immunohistochemistry Kit(Apply to rabbit or mouse primary antibody)

相关类别： 抗体相关支持试剂

储 存： 冷藏（2-8℃）

概述

该免疫组化试剂盒适用范围为石蜡包埋组织切片，也可用于固定后的冰冻切片。

特点

操作简便：无需太多准备，拿到试剂盒既能开展试验。 重现性好：实验结果重复性高。

应用

用于免疫组织化学实验，两种包装分别可用于 20 张和 50 张切片。

使用说明

1. 组织固定：在脱蜡之前，将切片 60℃ 恒温箱中烘烤 60 分钟。
2. 脱蜡：将切片用二甲苯浸泡 10 分钟，更换二甲苯后再浸泡 10 分钟。
3. 水化：分别用无水乙醇浸泡 5 分钟；95%乙醇中浸泡 5 分钟；85%乙醇中浸泡 5 分钟；75%乙醇中浸泡 5 分钟。
4. 洗涤：ddH₂O 浸泡 5 分钟，清洗 3 次。

5. 抗原修复（煮沸法）：压力锅中加入足以淹没切片的 10 mmol/L 的枸橼酸盐缓冲液（pH 6.0）（配制：将复性剂溶于相应体积 ddH₂O 中，混匀），加热至沸腾，切片置耐热塑料切片架上，放入锅中，盖好锅盖，扣上压力阀，继续加热，设置保压 3 min，时间到后打开放气阀放气，压力归零后开锅盖将内锅取出放置室温冷却，待溶液冷却至室温后取出切片（约 30 min）。
6. 洗涤：ddH₂O 浸泡 5 分钟，清洗 2 次，PBST 浸泡 5 分钟，清洗 2 次。
7. 灭活酶：每张切片滴加 50 μ l 灭活酶试剂，室温避光处理 15 分钟。
8. 洗涤：PBST 浸泡 5 分钟，清洗 3 次。（第一次迅速倒掉）
9. 封闭：每张切片滴加 3% BSA-PBST 50 μ l，湿盒中室温封闭 30 分钟。
10. 加一抗：弃去封闭液，每张切片滴加 50 μ l 一抗，4 $^{\circ}$ C 湿盒中孵育过夜或 37 $^{\circ}$ C 1 小时。
11. 复温：次日取出切片，室温复温 40 分钟。
12. 洗涤：PBST 浸泡 5 分钟，清洗 3 次。（第一次迅速倒掉）
13. 加酶标二抗：每张切片滴加 HRP 标记的二抗（抗兔/小鼠）25 μ l，室温或 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
14. 洗涤：PBST 浸泡 5 分钟，清洗 3 次。（第一次迅速倒掉）
15. 显色（DAB 法）：每张切片滴加 50 μ l 显色液（显色液配制：85% ddH₂O+ 5% DAB 缓冲液+5% DAB 底物+5% DAB 色原，避光现配现用，按需要量配制），湿盒中显色 5 分钟。
16. 终止显色：用蒸馏水终止显色反应。
17. 复染：每张切片滴加 50 μ l 苏木素体细胞快速染色液，染色 5 分钟，用蒸馏水冲洗干净。
18. 脱色反蓝：将切片放入 1% 盐酸~乙醇中脱色 3~5 秒后迅速取出放入蒸馏水中终止，再放入 PBST 中反蓝 5 分钟。
19. 封片：分别在 75% 乙醇中浸泡 5 分钟；85% 乙醇中浸泡 5 分钟；95% 乙醇中浸泡 5 分钟；无水乙醇中浸泡 5 分钟。用二甲苯浸泡 10 分钟，更换二甲苯后再浸泡 10 分钟。之后在切片上

加中性树脂，加盖玻片。

20. 观察：显微镜。

组份

复性剂（溶解前请混匀） HRP 标记的二抗（抗兔/小鼠） DAB 缓冲液（20×） DAB 底物（20×） DAB 色原（20×） 苏木素体细胞快速染色液