



## SA1028—兔 IgG

### SABC 免疫组化染色试剂盒

**产品编号：** SA1028（适用一抗为兔 IgG，标本为培养细胞或冰冻切片的免疫组化）

**产品规格：** 1/2KIT、1KIT

**保存条件：** 4°C可保存一年，应避免冷冻。

试剂盒组份	体积	用途	保存条件
3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6ml/12ml	去除内源性过氧化物酶	4°C可保存一年， 应避免冷冻。
5%BSA 封闭液	6ml/12ml	用于组织切片的封闭	
二抗	6ml/12ml	生物素标记抗兔 IgG	
SABC	6ml/12ml	链霉亲和素-过氧化物酶复合物	

注：无需稀释，可以直接使用。

#### 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，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，大量的过氧化物酶可以保证 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。

冰冻切片和培养细胞做免疫组化时，由于内源性抗体的抗原性完好保存，一般免疫组化试剂盒就会碰到严重的背景染色问题，尤其是丙酮固定的标本。本试剂盒所用的二抗是生物素标记的抗兔 IgG，具有高度的特异性，不和兔以外任何抗体起反应，所以不会因二抗引起背景染色。此外，本试剂盒也能用于兔标本石蜡切片的免疫组化，背景染色优于普通试剂盒。

#### 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<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 7g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 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<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O) 3g, 枸橼酸 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O) 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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，

FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR DIAGNOSTIC AND CLINICAL USE.



5min×3 次。

3. 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。

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 5%BSA 封闭液 37°C 孵育 30min，甩干，勿洗。

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

7. 滴加生物素标记抗兔 IgG，37°C 孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

8. 滴加 SABC，37°C 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°C 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 5%BSA 封闭液 37°C 孵育 30min，甩干，勿洗。

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

8.滴加生物素标记抗兔 IgG，37°C 孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

9.滴加 SABC，37°C 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。

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。