SA1092--小鼠 IgG

DyLight 488-SABC 免疫组化染色试剂盒

产品编号： SA1092

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
正常浓缩山羊血清封闭液	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。
生物素标记羊抗小鼠 IgG	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	生物素标记羊抗小鼠 IgG	
SABC-DyLight 488	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:200-800	SABC-DyLight 488 荧光染料	
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 是专为免疫化学而设计的，用以显示组织或细胞中的抗原分布。DyLight 是一种近年来被广泛应用的新型荧光染料， 由于具有很好的光谱宽度、更强的荧光强度，更高的光学耐受性（抗淬灭性）和特异性，对 pH 不敏感、分子较小而渗透性更好的优势，标记的抗体比 CY3 和 FITC 标记的更亮，但背景更低；DyLight®488-SABC，将链霉亲和素—生物素引入荧光系统，能进一步提高敏感性及降低背景。DyLight®488 最大吸收峰 493nm；最大发射峰 518nm 。呈黄绿色。

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。

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.滴加稀释的正常山羊血清封闭液(稀释比 1:10)，室温 20min，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.滴加稀释的生物素标记羊抗小鼠 IgG，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

7.滴加稀释的 SABC-DyLight 488(参考效价 1:200-800)，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

8.水溶性封片剂(AR1018)或抗荧光衰减封片剂(AR1109)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.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）

4.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。

5.滴加稀释的正常山羊血清封闭液(稀释比 1:10)，室温 20min，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.滴加稀释的生物素标记羊抗小鼠 IgG，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

8.滴加稀释的 SABC-DyLight 488(参考效价 1:200-800)，37℃孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。

9.水溶性封片剂(AR1018)或抗荧光衰减封片剂(AR1109)封片。

10.荧光显微镜观察。