

## SA1103—兔 IgG

### DyLight 550-SABC 免疫组化染色试剂盒

**产品编号:** SA1103

**产品规格:** 1/5KIT、2/5KIT、1KIT

**保存条件:** 4°C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	2ml/4ml/10ml	1:10	用于组织切片的封闭	4°C可保存一年, 应避免冷冻。
生物素标记羊抗兔 IgG	0.2ml/0.4ml/1ml	1:100	生物素标记羊抗兔 IgG	
SABC-DyLight 550	0.2ml/0.4ml/1ml	1:200-800	SABC-DyLight 550 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®550-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®550 最大吸收峰 562nm; 最大发射峰 576nm。呈红色。

#### 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<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。

#### A.石蜡片热修复染色步骤:

1. 石蜡切片, 常规脱蜡至水。
2. 根据需求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°C孵育 1-2 小时或 4°C过夜。PBS 冲洗，5min×3 次。
6. 滴加稀释的生物素标记羊抗兔 IgG，37°C孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
7. 滴加稀释的 SABC-DyLight 550，37°C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.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°C孵育 1-2 小时或 4°C过夜。PBS 冲洗，5min×3 次。
- 7.滴加稀释的生物素标记羊抗兔 IgG，37°C孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
- 8.滴加稀释的 SABC-DyLight 550，37°C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。