

SA1062--小鼠 IgG

SABC--FITC 免疫组化染色试剂盒

产品编号: SA1062

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	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-FITC	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	SABC-FITC 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。SABC-FITC 代表了传统的免疫荧光方法。荧光具有简便快速、不需显色既可直接观察的优点。但染色不能保存，敏感性较低是其缺点。将链霉亲和素—生物素引入荧光系统，能明显提高敏感性及降低背景。FITC 激发光波长为 490-495nm，发射光波长为 520-530nm，呈黄绿色荧光。

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, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 7g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5g。
4. 0.01M枸橼酸盐缓冲液 (AR0024): 1000ml蒸馏水中加枸橼酸三钠 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 3g, 枸橼酸 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 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)，37℃孵育 30min，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-FITC, 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), 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.滴加稀释的生物素标记羊抗小鼠 IgG, 37°C 孵育 30min。PBS 冲洗, 5min×3 次。

8.滴加稀释的 SABC-FITC, 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。