

SA1078—人 IgG

SABC-CY3 免疫组化染色试剂盒

产品编号: SA1078

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
正常浓缩兔血清封闭液	1ml/2ml/5ml	1:10	用于组织切片的封闭	4°C可保存一年, 应避免冷冻。
生物素标记兔抗人 IgG	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	生物素标记兔抗人 IgG	
SABC-CY3	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:200-800	SABC-CY3 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-CY3 代表了新一代的免疫荧光方法。CY3 比传统上的荧光更具有亲水性, 因而不会因疏水性而引起非特异性吸附或聚合, 从而背景更低。而且其敏感性和稳定性都更好。CY3 在 554nm 激化, 在 568-574nm 发射荧光, 呈鲜红色。

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, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 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。
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. 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. 滴加稀释的正常兔血清封闭液(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兔抗人 IgG，37°C 孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
7. 滴加稀释的 SABC-CY3(参考效价 1:200-800)，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.滴加稀释的正常兔血清封闭液(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兔抗人 IgG，37°C 孵育 30min。PBS 冲洗，5min×3 次。
- 8.滴加稀释的 SABC-CY3(参考效价 1:200-800)，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。