



SA1093--小鼠 IgM

Fluoro 488-SABC 免疫组化染色试剂盒

产品编号: SA1093

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	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。
生物素标记羊抗小鼠 IgM	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:100	生物素标记羊抗小鼠IgM	
SABC-Fluoro 488	0.1ml/0.2ml/0.5ml	1:200-800	SABC-Fluoro 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。Fluoro 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; Fluoro®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。Fluoro®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, Na₂HPO₄·12H₂O 7g, NaH₂PO₄·2H₂O 0.5g。
- 4.0.01M枸橼酸盐缓冲液 (AR0024): 1000ml蒸馏水中加枸橼酸三钠 (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O) 3g, 枸橼酸(C₆H₈O₇·H₂O) 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.根据需要进行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小鼠 IgM, 37°C孵育 30min。PBS 冲洗, 5min×3 次。
- 7.滴加稀释的 SABC-Fluoro 488(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小鼠 IgM, 37°C孵育 30min。PBS 冲洗, 5min×3 次。
- 8.滴加稀释的 SABC-Fluoro 488(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。