

兔/鼠通用型 Streptavidin-HRP 试剂盒 (DAB)

项目号: S665512

储存条件: 2-8℃。

产品内容:

Component	S665512
	3preps
BlockingBuffer	300ml
AntibodyPretreatSolution (HRP/Mouse)	3ml
DilutionBuffer	300ml
WashBuffer (10×)	00ml

产品简介:

本试剂盒根据生物素 (Biotin) 与链霉亲和素 (Streptavidin) 具有很强亲和力的原理设计。在兔源或鼠源的一抗与相应的靶抗原结合后, 本试剂盒中的生物素化抗兔/鼠通用型二抗与一抗特异结合; 二抗上标记的生物素与标记了过氧化物酶 (HRP) 的链霉亲和素结合, 形成抗原~特异性一抗~生物素化的二抗~HRP 标记的链霉亲和素复合物。HRP 可以催化底物显色, 从而推断待检抗原的存在及分布。该试剂盒使用的生物素化二抗、SA-HRP, 均采用优化的标记和纯化技术, 使得其染色有更高灵敏度和更低的背景, 适合于检测福尔马林固定石蜡包埋组织切片, 以及冰冻切片、细胞爬片、新鲜制备的血涂片等。兔/鼠通用型 Streptavidin-HRP 试剂盒适合与康为世纪即用型或浓缩型抗体配套使用。

注意事项:

1. 以每张切片加入 1 滴 (约 50 μ l) 计算, 3ml 可做 60 张切片, 18ml 可做 360 张切片。
2. 对于内源性生物素含量比较丰富的组织, 使用本试剂盒时最好用内源性生物素阻断剂进行封闭。
3. DAB 工作液现配现用, 配制好的工作液 2-8℃ 避光 1 小时内有效。
4. 实验过程中避免组织片干燥, 因此各步孵育时工作液用量必需充足, 保证完全覆盖组织样本, 且尽量在湿盒中进行孵育。
5. 为获得最佳实验结果, 请务必优化实验条件及试剂用量。
6. DAB 为可疑致癌物, 使用时请采取必要的防护措施。
7. 本产品仅用于科研, 不能用于人体反应或人体治疗。

操作步骤

1. 常规处理欲检测的石蜡或冰冻组织切片或细胞爬片等样本。
 - 1) 组织切片或细胞爬片染色前处理: a. 石蜡切片脱蜡水化: 60℃ 烤片 1 小时, 二甲苯脱蜡二次, 每次 5 分钟; 再依次浸入梯度乙醇 (无水乙醇—无水乙醇—95%—85%—75%乙醇) 和蒸馏水中各 5 分钟水化。b. 冰冻切片和细胞爬片切片 (或爬片) 浸于 0.01M pH7.4 PBS 洗涤 3 次×5 分钟。然后用 0.1% TritonX-100 覆盖组织 (或细胞) 浸润 15 分钟, 0.01M pH7.4 PBS 洗涤 2 次×5 分钟。
 - 2) 石蜡切片的抗原修复: 绝大多数情况下, 石蜡组织切片用柠檬酸缓冲液高压修复都是适合的。修复工作液配制: 1L 去离子水中加入 10ml 柠檬酸缓冲液 (IHC 抗原修复液, 100×) (Cat#: CW0128), 混匀即可。修复过程: 修复液加入高压锅内, 待修复切片浸于修复液中 (必需没过组织), 盖上压力

锅盖，加热至均匀喷汽，从喷汽开始计时，1~2 分钟后压力锅离开热源，自然冷却至室温，取出切片，蒸馏水淋洗后，再用 PBS (0.01M pH7.4) 漂洗 2 次，每次 3 分钟。

2. 滴加适量 SolutionA 白色溶液，即内源性过氧化物酶封闭液室温孵育 10 分钟，PBS 充分淋洗。

3. 滴加适量 SolutionB 白色溶液，即封闭用正常羊血清工作液，室温孵育 10 分钟，甩干。

4. 滴加适量一抗工作液（商品化即用型抗体或适当比例稀释的浓缩抗体），按实验要求孵育，然后 PBS 充分淋洗。

5. 滴加适量 SolutionC 黄色溶液，即生物素标记羊抗兔/鼠二抗工作液，室温孵育 10 分钟，PBS 充分淋洗。

6. 滴加适量 SolutionD 红色溶液，即 HRP 标记的链霉亲和素，室温孵育 10 分钟，PBS 充分淋洗。

7. DAB 显色工作液配制：根据需要量，将 DAB-A 和 DAB-B 以 1:19 的体积比混匀后即为 DAB 显色工作液。也可选择每毫升试剂 B 中滴加 1 滴（约 50 μ l）试剂 A，混匀即可。

8. 显色：加适量的 DAB 显色工作液于需要显色的组织切片或细胞爬片上即可显色，显色时间一般为 1-5 分钟。显微镜下观察控制显色时间，当达到最佳显色效果后，自来水冲洗终止显色。显色后的切片经复染、脱水透明，封片后可长期保存。