



SP Rabbit&Mouse HRP Kit (DAB)

兔/鼠通用型 Streptavidin-HRP试剂盒 (DAB)

目录号：CW2069S (3 mL)

保存条件：2-8℃

产品内容

Component	CW2069S 3 mL
Solution A (Endogenous Peroxydase Enzymes Blocking Buffer, White Solution)	3 mL
Solution B (Normal Goat Serum For Blocking, White Solution)	3 mL
Solution C (Goat anti-Rabbit/Mouse IgG, Biotin, Ready to Use, Yellow Solution)	3 mL
Solution D(Streptavidin-HRP, Ready to Use, Red Solution)	3 mL
DAB-A (20×)	250 µL
DAB-B (1×)	5 mL

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 $^{\circ}$ C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。

使用方法

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0.01 M pH7.4 PBS洗涤3次×5分钟。然后用0.1%Triton X-100覆盖组织(或细胞)浸润15分钟, 0.01 M 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: 1 L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(0.01 M pH7.4)漂洗2次, 每次3分钟。

2. 滴加适量Solution A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Solution B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Solution C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Solution D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50μL)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。