

SABC(小鼠/兔 IgG)-AP Kit 说明书

货号：SA0042

保存：-20℃。

试剂盒组成：

封闭液（5%BSA）:	10ml
Bio-羊抗小鼠/兔 IgG 浓缩液	200ul
SABC-AP 浓缩液	100ul
稀释液	30ml
1×AP 反应缓冲液	30ml
25×BCIP	1ml
25×NBT	1ml

产品说明：

本试剂盒适合于一抗为小鼠/兔 IgG 的免疫组化实验 AP 显色。

SABC 是专为免疫组化和其他免疫检测而设计的，用以显示组织和细胞中抗原分布。链霉亲和素(StreptAvidin)是一种从链霉菌中提取的蛋白质，同亲和素一样，对生物素有极高的亲和力，亲和素是一个碱性蛋白质（IP=10），经改造后可以转变成中性蛋白质。链霉亲和素等电点接近中性，对组织和细胞的非特异吸附很低，基于链霉亲和素的免疫组化方法背景很低。SABC 即 StreptAvidin—Biotin Complex。

实验步骤：（以石蜡切片为例，仅作参考）

1. 切片常规脱蜡至水(三次二甲苯，三次乙醇)。
2. 可选步骤：a、热修复抗原， b、酶消化， c、跳过此步，直接进入下一步。
3. 滴加 5%BSA 封闭液，室温 20 分钟。甩去多余液体，不洗。
4. 用稀释液将一抗按一定比例稀释（稀释后的一抗 4℃可保存一周），也可另行购买抗体稀释液。滴加稀释的一抗 37℃ 1 小时左右或 20℃时 2 小时左右。也可 4℃过夜。TBS（pH7.2-7.4）洗 2 分钟×3 次。（一抗的稀释度、孵育时间和温度与染色强度、背景有直接关系。具体稀释度和孵育时间参考一抗生产厂家说明书。）
5. 根据用量，用稀释液将 Bio-羊抗小鼠/兔 IgG 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1ml 稀释液加入 10ul Bio-羊抗小鼠/兔 IgG 浓缩液混匀。此工作液 4℃可保存一周)。滴加 Bio-羊抗小鼠/兔 IgG 工作液，20-37℃ 30 分钟。TBS(pH7.2-7.4) 洗 2 分钟×3 次。
6. 根据使用量，用稀释液将 SABC-AP 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1ml 稀释液加入 10ul SABC-AP 浓缩液混匀。此工作液 4℃可保存一周)。滴加 SABC-AP 工作液，20-37℃，30 分钟。TBS（pH7.2-7.4）洗 5 分钟×4 次。
7. 根据用量，1ml AP 缓冲液中加入 40ul NBT 溶液，混匀后再加入 40ul BCIP 溶液。此工作液现用现配。室温显色，镜下控制反应时间。蒸馏水洗涤终止反应。

* 对于冰冻切片，固定后，TBS 漂洗两次，接上述第二步。

注意事项：

如果染色背景过高，在 SABC 反应之后，AP 显色之前，用加有 0.01—0.02% TWEEN-20 的 TBST（pH7.2-7.4）洗涤切片 4 次，TBS 洗 2 次，然后 AP 显色。因为免疫组化指标众多，标本不一，此步骤仅作参考。