

IHC 通用试剂盒（兔/小鼠）

货号：SIHCT-001

规格：50T

保质期：1 年

产品应用：本试剂盒针对一抗为兔/小鼠来源的石蜡包埋切片 IHC 实验使用。

产品组分：

产品编号	产品名称	规格	储存温度
P1010	PBS 磷酸盐缓冲液干粉	2L×2	RT
C1032	柠檬酸钠抗原修复液（50×）	20mL	RT
C1034	EDTA 抗原修复液（50×）	20mL	RT
KTP-001	内源性过氧化物酶阻断剂（即用型）	5 mL	2-8℃
KTP-002	正常山羊血清封闭液（即用型）	5 mL	-20℃
KTP-1314	羊抗兔/小鼠 IgG-HRP	5 mL	2-8℃
KTP-003A	DAB kit（20×）显色液	0.3mL	2-8℃
KTP-003B	DAB kit 稀释液	5 mL	2-8℃
G1080	Mayer 苏木素染色液(免疫组化)	5 mL	RT
G8590	中性树胶	5 mL	RT
	说明书	1 份	

***收到该试剂盒后，请核对各试剂组分并按照说明书所提供的储存温度进行保存。**

注意事项：

1. DAB 是一潜在致癌物，使用时请注意自我防护。
2. 检测样本时需同时做阴性对照和阳性对照。
3. 本试剂盒仅用于科研，不能应用于临床。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。



自备材料及试剂:

1. 二甲苯, 乙醇;
2. 蒸馏水或去离子水;
3. 兔/小鼠源一抗;
4. 显微镜。

溶液配制:

1. PBS 缓冲液: 取 PBS 磷酸盐缓冲液干粉, 加入双蒸水, 定容至 2000 mL。
2. 抗原修复工作液: 取抗原修复液 (50×) 20mL, 加入双蒸水, 定容至 1000 mL。
3. DAB 工作液: 取 DAB kit (20×) 显色液 1 滴约 50 μ L, 加入到 1mL 的 DAB kit 稀释液中, 混匀。

操作步骤:

1. **脱蜡:** 将石蜡切片按顺序置于 3-4 缸 100%二甲苯浸泡, 每缸分别 5 min;
2. **水化:** 将石蜡切片按顺序转移至 100%, 100%, 95%, 85%, 75%的乙醇, 每缸浸泡 3 min, 最后至蒸馏水或去离子水清洗;
3. **抗原修复:** 使用柠檬酸修复液 (pH6.0) 或 EDTA 修复液 (pH9.0) 高压热修复 2.5 min, 自然冷却至室温;
4. **洗涤:** PBS 缓冲液清洗 3 次, 每次 3 min;
5. **阻断:** 用吸水纸擦干组织周围玻片, 免疫组化笔在组织周围画圈, 滴加 100 μ L 内源性过氧化物酶阻断剂到切片组织上, 室温孵育 10 min;
6. **洗涤:** PBS 缓冲液清洗 3 次, 每次 3 min;
7. **封闭:** 滴加 100 μ L 正常山羊血清封闭液, 37°C封闭 10-20 min;
8. **一抗孵育:** 用 PBS 缓冲液或抗体稀释液将一抗原液稀释成工作液, 现用现配, 在切片上滴加一抗工作液, 放入湿盒 4°C过夜孵育或 37°C孵育 1-2 h (可参考一抗稀释比例及孵育条件);
9. **平衡复温:** 4°C过夜后从冰箱拿出样本, 在室温下孵育 15 min 复温 (抗体孵育为 4°C过夜选用此步骤, 如室温孵育直接进入下一步洗涤);
10. **洗涤:** PBS 缓冲液清洗 3 次, 每次 3 min;
11. **二抗孵育:** 吸水纸擦干组织周围切片后, 滴加 100 μ L 羊抗兔/小鼠 IgG-HRP, 37°C恒温箱 30 min 或室温 1 h;

12. **洗涤:** PBS 缓冲液清洗 3 次, 每次 3 min;
13. **显色:** 每张切片滴加新鲜配制的 DAB 工作液 100 μ L 孵育 1-3 min;
 - (1) DAB 显色液需现配现用, 避光放置, 且在 30 min 内使用。
 - (2) 可根据需要一次染多张切片, 各种试剂量按照上述比例放大即可。
 - (3) 组织的显色时间根据具体显色情况判断深浅度。
14. **复染:** 滴加适量苏木素染色液复染, 孵育 3-5 min, 自来水返蓝 15 min;
15. **脱水:** 75%, 85%, 95%, 100%, 100%的乙醇浸泡各 2 min;
16. **透明:** 二甲苯浸泡 2 min $\times$ 2 次;
17. **封片:** 中性树胶封片, 镜检;
18. **结果判定:** 在光学显微镜下对染色的切片观察并判断。苏木素染细胞核为蓝色, DAB 显色的阳性表达为棕黄色或棕褐色。

相关辅助试剂:

产品编号	产品名称	规格
T8200	曲拉通 Triton X-100	100/500mL
P9460	蛋白酶 K	100/1000mg
YA0310	免疫组化笔	小号