



SP(小鼠/兔 IgG)-POD Kit 说明书

货号: SP0041

产品内容:

封闭液 (正常山羊血清)	3mL	6mL	18mL	110mL
3% H ₂ O ₂	3mL	6mL	18mL	110mL
Bio-羊抗兔 IgG 浓缩液	30μL	60μL	180μL	1.1mL
Bio-羊抗小鼠 IgG 浓缩液	30μL	60μL	180μL	1.1mL
链霉亲和素-POD 浓缩液	30μL	60μL	180 μL	1.1mL
稀释液	10mL	20mL	60mL	400mL
20×DAB 显色液 A	0.3mL	0.6mL	1.8mL	11mL
20×DAB 显色液 B	0.3mL	0.6mL	1.8mL	11mL

保存:

如果长时间不使用, 请将所有试剂存放于-20℃, 如经常使用, 可将封闭液, 3% H₂O₂ 和 20×DAB 显色液 B 存放于 2-8℃以方便使用。

产品说明:

本试剂盒适合于一抗为小鼠 IgG 或兔 IgG 的免疫组化实验 DAB 显色。

SP 试剂盒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 (PI=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, 因此基于链霉亲和素的免疫组化方法背景很低。

操作步骤 (仅供参考):

* 以石蜡切片为例

- 切片常规脱蜡至水(三次二甲苯, 三次乙醇)。
- 可选步骤:
 - 热修复抗原, 将切片浸入 0.01M 柠檬酸钠缓冲液 (PH6.0), 电炉或微波炉加热至沸腾后断电, 间隔 5-10 分钟后, 反复 1-2 次。冷却后 PBS (pH7.2-7.6) 洗涤 1-2 次。
 - 酶消化, 滴加消化液, 37℃10 分钟, PBS (pH7.2-7.4) 洗涤 2-3 次。
 - 跳过此步, 直接进入下一步。
- 3% H₂O₂ 室温处理 5-10 分钟以灭活内源性酶。蒸馏水洗 3 次。
- 滴加封闭液 (建议稀释至 10-20%), 室温 20 分钟。甩去多余液体, 免洗。
- 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℃ 孵育 1 小时左右或 20℃ 2 小时左右, 也可 4℃过夜。PBS (pH7.2-7.4) 洗涤 3 次, 每次 2 分钟。(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。一般来说, 阳性染色强度不够时, 可提高一抗浓度和延长孵育时间; 背景过高时, 可降低一抗浓度和缩短孵育时

间。)

6. 根据用量,用稀释液将 Bio-羊抗兔 IgG 或 Bio-羊抗小鼠 IgG 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1mL 稀释液加入 10 μ L Bio-羊抗兔 IgG 或 Bio-羊抗小鼠 IgG 浓缩液混匀,此工作液 4 $^{\circ}$ C 可保存一周)。滴加 Bio-羊抗兔 IgG 或 Bio-羊抗小鼠 IgG 工作液,20-37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。PBS (pH7.2-7.4) 洗涤 3 次,每次 2 分钟。

7. 根据使用量,用稀释液将链霉亲和素-POD 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1mL 稀释液加入 10 μ L 链霉亲和素-POD 浓缩液混匀,此工作液 4 $^{\circ}$ C 可保存一周)。滴加链霉亲和素-POD 工作液,20-37 $^{\circ}$ C, 30 分钟。PBS (pH7.2-7.4) 洗涤 4 次,每次 5 分钟。

8. DAB 显色:根据用量,用 PBS (pH7.2-7.4) 配制,按 1mL PBS 加入 50 μ L 20 $\times$ DAB 显色液 A,加入 50 μ L 20 $\times$ DAB 显色液 B。充分混匀后滴加到切片上。室温显色,镜下控制反应时间,一般在 5-30 分钟之间。蒸馏水洗涤终止反应。

9. 苏木素轻度复染。脱水,透明,封片。显微镜观察。

对于细胞爬片,固定后,PBS 漂洗两次,再用 0.5% Triton X-100 室温孵育 20 分钟,PBS 漂洗两次,3% H₂O₂ 处理 15 分钟;PBS 漂洗两次,接上述第 4 步。

对于冰冻切片,固定后,PBS 漂洗两次,接上述第二步。

注意事项:

如果染色背景过高,在 SP 反应之后,DAB 显色之前,用加有 0.01—0.02% TWEEN-20 的 PBST (pH7.2-7.4) 洗涤切片 4 次,PBS 洗 2 次,然后 DAB 显色。

相关产品:

A1800	抗体稀释液(普通型)
A1810	一抗稀释液
A1820	HRP 标记抗体稀释液
P2100	10 $\times$ 多聚赖氨酸
T8200	Triton X-100
P1032	20 $\times$ PBS, PH7.2-7.4
P1031	1 $\times$ PBST PH7.2-7.4 0.01M
C1010	柠檬酸钠缓冲液 0.01mol/L, pH6.0
X1020	0.1%胰蛋白酶液消化液
G1080	Mayer' 苏木素染液(免疫组化)