

SP(小鼠/兔IgG)-POD Kit说明书

产品货号: M20313

产品规格: 3ml/6ml/18ml

产品简介:

本试剂盒适合于一抗为小鼠/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。

产品组成:

封闭液(正常山羊血清)	3ml	6ml	18ml
3% H ₂ O ₂	3ml	6ml	18ml
Bio-羊抗小鼠/兔IgG浓缩液	60ul	120ul	360ul
链霉亲和素-POD浓缩液	30ul	60ul	180ul
稀释液	10ml	20ml	60ml
20×DAB显色液A	0.3ml	0.6ml	1.8ml
20×DAB显色液B	0.3ml	0.6ml	1.8ml

操作步骤:(以石蜡切片为例)

1. 切片常规脱蜡至水(三次二甲苯,三次乙醇)。
2. 3% H₂O₂室温处理5-10分钟以灭活内源性酶。蒸馏水洗3次。
3. 可选步骤:
 - a. 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。
 - b. 酶消化,滴加消化液,37℃10分钟,PBS(pH7.2-7.4)洗涤2-3次。
 - c. 跳过此步,直接进入下一步。
4. 滴加封闭液,室温20分钟。甩去多余液体,免洗。
5. 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-羊抗小鼠/兔IgG浓缩液按1:100稀释成工作液(1ml稀释液加入10ulBio-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℃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10ul链霉亲和素-POD浓缩液混匀,此工作液4℃可保存一周)。滴加链霉亲和素-POD工作液,20-37℃,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50ul 20×DAB显色液A,加入50ul 20×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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

QQ: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

止反应。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。

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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>