

免疫染色抗体洗脱液

产品货号: T15457

产品规格: 30ml

产品简介:

本产品用于组织和细胞的免疫荧光(Immunofluorescence, IF)、免疫组化(Immunohistochemistry, IHC)和免疫细胞化学(Immunocytochemistry, ICC)等免疫染色时一抗, 二抗的洗脱。此抗体洗脱液操作简单、条件温和、洗脱效果强劲, 能在不损伤样本形态结构的基础上将一抗, 二抗等彻底洗脱掉。尤其适用于易掉片的脑、骨、皮肤, 主动脉瓣等石蜡切片、冰冻切片、细胞爬片, 细胞涂片等TSA技术的免疫荧光多标实验中的抗体洗脱。将非共价结合的一抗与目的蛋白、二抗与一抗打断并洗脱掉, 去除对后续抗体标记的影响。

产品组成:

产品名称	规格	保存
免疫染色抗体洗脱液	30ml	2-8°C, 避光

使用方法:

本产品为即用型, 无需稀释。使用前提前将抗体洗脱液从冰箱取出恢复至室温后滴加少量抗体洗脱液覆盖样品, 室温孵育5min后弃去洗脱液, 再次滴加足量的洗脱液完全覆盖组织, 37°C孵育30min后将玻片置于TBST中在摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。

以石蜡切片TSA荧光多标为例详述该抗体洗脱液的应用:

1. 石蜡切片脱蜡至水: 依次将切片放入环保型脱蜡液I 10min-环保型脱蜡液II 10min-环保型脱蜡液III 10min-无水乙醇I 5min-无水乙醇II 5min-无水乙醇III 5min-蒸馏水洗。
2. 抗原修复: 根据组织类型及抗体种类, 选择对应的抗原修复液及修复方式进行抗原修复。一般修复方式为抗原修复仪, 微波, 高压等高温修复。此过程中应防止修复液过度蒸发, 切勿干片。自然冷却后将玻片置于PBS中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
3. 画圈, 双氧水封闭: 切片稍甩干后用组化笔沿着组织周围画圈, 一般距离组织3mm左右, 画完圈待圈干后用纯水或PBS润洗一遍, 之后将切片放入3%双氧水溶液中, 室温避光孵育25min, 封闭内源性的过氧化物酶。封闭完成后将玻片置于PBS中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
4. 血清封闭: 切片稍微甩干后, 向组织上滴加3%BSA或血清室温封闭30min, 具体根据一抗及二抗种属决定封闭试剂。
5. 加第一种一抗: 轻轻甩掉封闭液, 在切片上滴加按一定比例配好的一抗, 切片平放于湿盒内, 4°C孵育过夜。(湿盒底部加少量水防止抗体蒸发)
6. 加对应的HRP标记的二抗: 玻片置于PBS中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的HRP标记的二抗覆盖组织, 室温孵育50min。
7. 加iF488-TSA: 玻片置于PBS中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。切片稍甩干后在圈内滴加配制好的iF488-TSA工作液, 避光室温孵育10min。孵育完后, 玻片置于TBST中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
8. 抗体洗脱液处理: 切片稍甩干后将恢复至室温的抗体洗脱液铺满整个组织, 室温孵育5min后去除抗体洗脱液, 再次滴加足量的抗体洗脱液完全覆盖组织, 37°C孵育30min, 孵育完成后将玻片置于TBST中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。



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

- 血清封闭: 切片稍微甩干后, 向组织上滴加3%BSA或血清室温封闭30min, 具体根据第二种一抗及对应的二抗种属决定封闭试剂。
- 加第二种一抗: 在切片上滴加按一定比例配好的一抗, 切片平放于湿盒内4°C孵育过夜。(湿盒底部加少量水防止抗体蒸发)。
- 加对应的HRP标记的二抗: 玻片置于PBS中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的HRP标记的二抗覆盖组织, 室温孵育50min。
- 加iF555-TSA: 玻片置于PBS中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。切片稍甩干后在圈内滴加配制好iF555-TS工作液, 避光室温孵育10min。孵育完后, 玻片置于TBST中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
- 抗体洗脱液处理: 切片稍甩干后将恢复至室温的抗体洗脱液铺满整个组织, 室温孵育5min后去除抗体洗脱液, 再次滴加足量的抗体洗脱液完全覆盖组织, 37°C孵育30min, 孵育完成后将玻片置于TBST中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
备注: 步骤4-7为一轮抗体标记过程, 每轮抗体标记只需更换不同荧光素标记的TSA试剂(iF647-TSA; iF594-TSA; iF440-TSA G1250; iF546-TSA; iF700-TSA; iF750-TSA)。一轮抗体标记用完此抗体洗脱液37°C孵育30min, 去除此轮标记的一抗, 二抗后继续下一轮的抗体标记过程。根据荧光多标抗体数量, 重复4-7步, 直至完成所有的抗体标记。
- DAPI复染细胞核: 切片稍甩干后在圈内滴加DAPI染液, 避光室温孵育10min。
- 自发荧光淬灭: 玻片置于PBS中在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。切片稍甩干后, 在圈内加入组织自发荧光淬灭剂避光孵育5min, 流水冲洗10min。
- 封片: 切片稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片。
- 镜检拍照: 切片于荧光显微镜下观察并采集图像, 也可用荧光扫描仪扫描成像。

以细胞爬片TSA荧光多标为例详述该抗体洗脱液的应用:

- 爬片清洗: 经过固定后的细胞爬片, 先轻轻去除孔板中的固定液, 然后加入PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
- 细胞破膜: 去除孔板中的PBS后每孔加入约500ul的破膜液, 室温孵育20min。之后用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
- 双氧水封闭: 去除孔板中的PBS后每孔加入约500ul的3%双氧水溶液, 室温避光孵育25min, 之后用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
- 画圈, 血清封闭: 去除孔板中的PBS, 将爬片稍甩干后用组化笔沿着爬片边缘画圈(防止试剂流失), 画完圈待圈干后用PBS润洗一遍, 之后向圈内滴加3%BSA或血清室温封闭30min, 具体根据一抗及二抗种属决定封闭试剂。
- 加第一种一抗: 轻轻甩掉封闭血清后, 向细胞孔板里滴加按一定比例配制好的一抗, 细胞培养板平放于湿盒内4°C孵育过夜。(湿盒底部加少量水防止抗体蒸发)
- 加对应的HRP标记的二抗: 去除爬片中的一抗后, 用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。去除PBS后在圈内滴加与一抗相应种属的HRP标记的二抗覆盖细胞, 室温孵育50min。
- 加iF488-TSA: 去除爬片中的二抗后, 用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。去除PBS后在圈内滴加配制好的iF488-TSA工作液, 避光室温孵育10min。孵育完后, 用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
- 抗体洗脱液处理: 将孔板中的PBS去除干净后将恢复至室温的抗体洗脱液铺满整个爬片, 室温孵育5min后去除抗体洗脱液, 再次滴加足量的抗体洗脱液完全覆盖细胞, 37°C孵育30min, 孵育完成后去除抗体洗脱液, 之后用TBST在钟摆摇床上晃动洗涤3次, 每次5min。
- 血清封闭: 去除爬片中的TBST后, 向圈内滴加3%BSA或血清室温封闭30min, 具体根据第二种一抗及对应的二抗种属决定封闭试剂。



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

10. 加第二种一抗：轻轻甩掉封闭血清后，向细胞孔板里滴加按一定比例配制好的一抗，细胞培养板平放于湿盒内4°C孵育过夜。（湿盒底部加少量水防止抗体蒸发）
11. 加对应的HRP标记的二抗：去除爬片中的一抗后，用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次，每次5min。去除PBS后在圈内滴加与一抗相应种属的HRP标记的二抗覆盖细胞，室温孵育50min。
12. 加iF555-TSA：去除爬片中的二抗后，用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次，每次5min。去除PBS后在圈内滴加配制好的iF555-TSA工作液，避光室温孵育10min。孵育完后，用PBS在钟摆摇床上晃动洗涤3次，每次5min。
13. 抗体洗脱液处理：将孔板中的PBS去除干净后将恢复至室温的抗体洗脱液铺满整个爬片，室温孵育5min后去除抗体洗脱液，再次滴加足量的抗体洗脱液完全覆盖细胞，37°C孵育30min，孵育完成后去除抗体洗脱液，之后用TBST在钟摆摇床上晃动洗涤3次，每次5min。
备注：步骤4-7为一轮抗体标记过程，每轮抗体标记只需更换不同荧光素标记的TSA试剂（iF440-TSA；iF546-TSA；iF594-TSA；iF647-TSA；iF700-TSA；iF750-TSA）。一轮抗体标记完用此抗体洗脱液37°C孵育30min，去除此轮标记的一抗，二抗后继续下一轮的抗体标记过程。根据荧光多标抗体数量，重复4-7步，直至完成所有的抗体标记。
14. DAPI复染细胞核：去除爬片中的PBS后在圈内滴加DAPI染液，避光室温孵育10min。
15. 封片：爬片稍控干后用抗荧光淬灭封片剂封片。
16. 镜检拍照：切片于荧光显微镜下观察并采集图像，也可用荧光扫描仪扫描成像。

注意事项：

1. 抗体洗脱效果取决于切片厚度、洗脱温度和时间。4~8 μ m切片通常于湿盒中37°C处理30 min即可。更厚的切片需延长或提高洗涤时间和温度。
2. 为保证抗体洗脱效果及荧光多重标记效果，正式多重标记之前需分别做各个抗体的TSA单标测试（即一抗—HRP二抗—对应多标中的TSA），确定每个抗体单标都能做出较理想的阳性后再根据单标测试结果去确定多标的抗原修复条件，抗体顺序等实验条件。
3. 如果有些抗体效价高，亲和力较强，不易洗脱彻底，可提高洗涤温度至50°C 30min，或增加洗脱次数，即组织上加入抗体洗脱液37°C孵育30min后，去掉抗体洗脱液，再加入新的抗体洗脱液，继续37°C孵育30min。
4. 此抗体洗脱液流动性强，片子未水平放置时，试剂易流出圈外，影响洗脱效果，需在操作过程注意切片平放。
5. 操作时需带手套，口罩，穿实验服，避免试剂接触皮肤和眼睛。如不慎接触到敏感区域，立即用大量清水冲洗。
6. 超过有效期的试剂效价可能降低，因此请在试剂有效期内使用。

有效期：6个月有效。



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