

免疫组化试剂盒（抗兔二抗） E2056

描述: 本试剂盒采用有高灵敏度的两步法免疫组化试剂盒,适用于一抗来源为兔的抗体的后续显色。试剂盒中包含辣根过氧化物酶 HRP 偶联标记的山羊抗兔 IgG,本产品适用于兔来源的一抗,在 IHC、Western blot 实验中,HRP 标记的山羊抗兔二抗与兔来源一抗(先与抗原反应)结合后,再与 DAB 反应。DAB 是辣根过氧化物酶(HRP)的底物,在 HRP 的催化下,DAB 产生棕色沉淀,实现信号放大和显色。

储存: 二抗-20℃保存,DAB 稀释液和 50×DAB 原液 4℃保存;有效期 12 个月
冰袋运输

组成: DAB 稀释液	12.5ml
50×DAB 原液	250ul
HRP 标记山羊抗兔二抗	100ul

准备工作:

- 1.自备 PBS、细胞核复染试剂(推荐苏木素染液、苏木素分化液、苏木素返蓝液)、梯度酒精、二甲苯、封片剂等。
- 2.配制二抗工作液:将 HRP 标记山羊抗兔二抗用 PBST (pH 7.2-7.4) 以 1:200 比例稀释,得到二抗工作液。现配现用,48h 内使用。
- 3.配制 DAB 显色工作液:每 1mL DAB 稀释液中加入 20μL 50×DAB 原液,混匀备用。按需配制,现配现用。

操作步骤:

- 1.按照常规免疫组化步骤,组织切片经前期脱蜡、抗原修复、封闭、一抗孵育后,经 PBS 洗三次,每次 5min。
- 2.二抗孵育:每张切片上滴加 50-100μL 二抗工作液完全覆盖组织,室温孵育 30-60min。经 PBS 洗三次,每次 5min。
- 3.DAB 显色:每张切片上滴加 50-100μL DAB 工作液,室温孵育数分钟,通过显微镜下观察控制显色至预期效果,然后立即水洗终止显色。
- 4.(可选)细胞核复染:切片经苏木素染液染色 3-5 min,自来水洗;经苏木素分化液快速分化 3-5 s,自来水洗;自来水冲洗返蓝或经苏木素返蓝液返蓝 3-5 s。
- 5.封片:切片按常规步骤经梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

注意事项:

- 1.如果免疫组化显色时出现背景过深,考虑延长洗涤时间,使用适当的封闭液进行封闭,灭活内源性过氧化氢酶,缩短显色时间,降低二抗浓度等。如果没有显色或显色太浅,可适当提高一抗、二抗浓度,延长显色时间,其次检测二抗是否被正常显色。
- 2.DAB 人体有害,操作时请小心,做好防护避免直接接触人体或吸入体内。
- 3.本产品仅供科研用途,不用于临床诊断!