

小鼠免疫组化试剂盒

Histostain-Plus Kit



| 目录号 | 规格 |
|------------|------------|
| FXP019-060 | 60 slides |
| FXP019-150 | 150 slides |
| FXP019-300 | 300 slides |

北京四正柏生物科技有限公司

相关介绍：适用于免疫组化方法的石蜡包埋切片、冰冻切片、培养细胞涂片及血液标本。

储存条件：2-8℃保存，勿冰冻。

有效期：一年

试剂盒组份：

| | 组分名称 | 数量 | 浓度 | 规格 (60 slides) | 规格 (150slides) | 规格 (300slides) |
|------|--------------|-----|-----|----------------|----------------|----------------|
| 试剂 A | 封闭液(10%山羊血清) | 1 瓶 | 即用型 | 3 ml | 7.5 ml | 7.5 ml×2 瓶 |
| 试剂 B | 抗小鼠生物素化二抗 | 1 瓶 | 即用型 | 3 ml | 7.5 ml | 7.5 ml×2 瓶 |
| 试剂 C | HRP 标记链亲和素 | 1 瓶 | 即用型 | 3 ml | 7.5 ml | 7.5 ml×2 瓶 |
| 试剂 D | DAB 底物缓冲液 | 一支 | 20× | 160 μl | 400 μl | 800 μl |
| 试剂 E | DAB 显色液 | 一支 | 20× | 160 μl | 400 μl | 800 μl |
| 试剂 F | 底物溶液 | 一支 | 20× | 160 μl | 400 μl | 800 μl |

所需试剂及材料（本试剂盒未提供）：

1. 二甲苯、乙醇、无水甲醇
2. 蒸馏水或去离子水
3. 30% H₂O₂
4. 10 mM PBS, pH 7.4 或 50mM TBS, pH 7.8
5. 一抗（小鼠抗体）
6. 苏木精染液
7. 封片胶
8. 显微镜

染色步骤：（以石蜡切片为例）

1. 标本制备

石蜡切片用二甲苯常规脱蜡、入水、抗原修复（可根据一抗说明书推荐方法进行的操作）。染色前用 PBS 浸泡组织或细胞涂片 10 分钟。（注意：从此步骤起，严禁标本或组织切片干燥）

2. 染色

- a) 石蜡切片放入 3% H₂O₂-甲醇液中浸泡 10 分钟，以消除内源性过氧化氢酶的作用。
- b) 用 PBS 洗 2 min/次×3 次。
- c) 加一滴试剂 A 于组织切片上（需完全覆盖待检组织）孵育 10 分钟。
- d) 倒掉或吸干液体（不要冲洗）。
- e) 每张切片加二滴（100 μl）或适量一抗（需完全覆盖待检组织），湿盒内孵育 30-60 分钟。
- f) 用 PBS 洗 2 min/次×3 次。
- g) 每张切片加一滴试剂 B（需完全覆盖待检组织），孵育 10 分钟。
- h) 用 PBS 洗 2 min/次×3 次。

- i) 每张切片加一滴试剂 C (需完全覆盖待检组织), 孵育 10 分钟。
- j) 用 PBS 洗 2 min/次×3 次。
- k) 制备 DAB 显色液 (需现用现配; 以染一张切片为例; 可根据需要一次染多张切片, 具体用量见下表)
 - i. 取 2.5μl 试剂 D 加入到 50μl 蒸馏水中, 混匀。
 - ii. 取 2.5μl 试剂 E、2.5μl 试剂 F 加入 i 中, 混匀。

配制 DAB 显色液所需试剂 D、E、F 用量表

| 切片数 (张) | 试剂 D | 试剂 E | 试剂 F | 蒸馏水 |
|---------|--------|--------|--------|-------|
| 1 | 2.5μl | 2.5μl | 2.5μl | 50μl |
| 2 | 5μl | 5μl | 5μl | 100μl |
| 3 | 7.5μl | 7.5μl | 7.5μl | 150μl |
| 4 | 10μl | 10μl | 10μl | 200μl |
| 5 | 12.5μl | 12.5μl | 12.5μl | 250μl |
| 6 | 15μl | 15μl | 15μl | 300μl |
| 7 | 17.5μl | 17.5μl | 17.5μl | 350μl |
| 8 | 20μl | 20μl | 20μl | 400μl |
| 9 | 22.5μl | 22.5μl | 22.5μl | 450μl |
| 10 | 25μl | 25μl | 25μl | 500μl |
| 20 | 50μl | 50μl | 50μl | 1ml |
| 30 | 75μl | 75μl | 75μl | 1.5ml |
| 40 | 100μl | 100μl | 100μl | 2ml |
| 50 | 125μl | 125μl | 125μl | 2.5ml |
| 60 | 150μl | 150μl | 150μl | 3ml |
| 100 | 250μl | 250μl | 250μl | 5ml |

- l) 每张切片加一滴上述 DAB 显色液, 室温显色 2-5 分钟 (可在镜下掌握显色程度)。
- m) 自来水充分冲洗。
- n) 复染, 盐酸酒精分化。
- o) 脱水、透明、封片、镜检。

3. 结果

阳性结果为在 Ag 定位处染棕黄或棕褐色。

注意事项

1. 检测标本时需同时做阴性对照和阳性对照
2. DAB 是一潜在致癌物, 使用时请注意自我防护。
3. DAB 显色液需现用现配, 避光放置, 且在 30 分钟内染色。
4. **此产品仅供研究, 不用于临床诊断**

参考文献

1. Elias JM, et al. AM J Clin Pathol 92:62-67, 1989.
2. Hsu SM and Raine L. In: Advances in Immunocytochemistry R.A. DeLellis, ed., Mason Publishing USA, Inc., New York, 1984, pp.31-42.
3. Warnke R and Levy R. J Histochem Cytochem 28:771-776, 1980.

4. Shi Z, et al. J. Histochem Cytochem 36(3):317-322, 1988.