

## 抗体洗脱液(mIHC专用)

### 产品介绍

抗体洗脱液适用于冰冻切片、细胞爬片等样品中，TSA染色过程中的抗体洗脱液。

### 产品组成成分

| 名称    | AWI0707a | 保存条件 |
|-------|----------|------|
| 抗体洗脱液 | 30 ml    | RT   |

### 保存条件

RT 保存，12个月

### 操作步骤

#### (1) 样本准备

①爬片准备：多聚甲醛固定 15min，PBS 洗涤三次，每次 5min，通透液破膜 30min，PBS洗涤 3 次，每次 5min。

②冰冻切片准备：冰箱取出冰冻切片恢复至室温晾干水分后固定10-30min，PBS 洗 5min 重复 3 次，用蒸馏水或PBS脱胶10min，PBS 洗 5min 重复 3 次，通透液破膜 30min，PBS洗涤 3 次，每次 5min。

(2) 阻断内源性过氧化物：切片放入内源性过氧化物酶阻断剂，室温避光孵育 15 min，将玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。

(3) BSA 封闭：细胞孔板内滴加用 5% BSA-PBS（或者其他封闭液）均匀覆盖细胞，室温封闭 30min（如果爬片盖玻片较大可用组化笔在盖玻片四周画圈）。

(4) 加一抗：轻轻甩掉封闭液，在切片上滴加用抗体稀释液稀释好的的一抗 X，切片平放于避光湿盒内 4℃孵育过夜或者 37℃ 1-2h。（湿盒内加少量水防止抗体蒸发）

(5) 加免疫组化 HRP 二抗：玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。切片稍甩干后在圈内滴加不一抗相应种属的免疫组化 HRP 二抗覆盖组织，避光室温孵育 30-50min，PBS 洗三次。

(6) 荧光染料反应：TSA-520 荧光染料反应 3-10min，PBS 洗三次。

(7) 抗体洗脱：滴加适量37℃预热至完全溶解的抗体洗脱液覆盖样本，37℃放置 5-20 分钟弃去洗脱液，再次滴加适量抗体洗脱液覆盖样本37℃放置 5-20 分钟，弃洗脱液，PBS 洗 3 次每次 5 分钟。

(8) 重复 2-7 步骤（换用另外一种 TSA-XXX 荧光染料）。

(9)DAPI 复染细胞核：玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。切片稍甩干后在圈内滴加 DAPI 染液，避光室温孵育 10min。

(10)封片：玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。切片稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片。

(11)镜检拍照：切片于荧光显微镜/共聚焦/多通道荧光扫描仪/多光谱成像系统下观察并采集图像。

## 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、一抗种类，具体洗脱时间需要根据情况调整。
- 2、如果有些抗体的洗脱有问题，可降低一抗稀释比例，或将这些抗体放到TSA标记的最后一轮做。
- 3、每次使用前需确保试剂完全溶解无沉淀，如发现有沉淀析出，需放入37℃充分溶解后方可使用。
- 4、抗体洗脱液，优先应用于细胞爬片/冰冻切片/易脱片的骨组织等，石蜡切片优先应用EDTA修复液洗脱抗体。
- 5、抗体洗脱液偏酸性，过度洗脱（时间过长或者温度过高）会导致抗原性降低以及DAPI核弱染。
- 6、没有固定的切片不适合抗体洗脱液操作。
- 7、超过有效期的试剂活性可能降低，因此请在试剂有效期内使用。
- 8、为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
- 9、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

## 相关产品

| 货号      | 名称                 |
|---------|--------------------|
| AWC0298 | DAPI染色液(50 µg/mL)  |
| AWI0692 | 双标多重免疫荧光试剂盒(石蜡切片)  |
| AWI0693 | 三标多重免疫荧光试剂盒(石蜡切片)  |
| AWI0694 | 四标多重免疫荧光试剂盒(石蜡切片)  |
| AWI0695 | 五标多重免疫荧光试剂盒(石蜡切片)  |
| AWI0697 | 双标多重免疫荧光试剂盒(冰冻切片)  |
| AWI0698 | 三标多重免疫荧光试剂盒(冰冻切片)  |
| AWI0702 | 双标多重免疫荧光试剂盒(细胞爬片)  |
| AWI0703 | 三标多重免疫荧光试剂盒(细胞爬片)  |
| AWC0215 | 磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁) |
| AWI0206 | 柠檬酸钠抗原修复液(50×)     |
| AWI0117 | EDTA抗原修复液          |