

免疫组化二抗试剂盒（小鼠/兔超敏聚合物法检测系统）

产品介绍

本产品主要用于免疫组织化学染色的显色。其原理为辣根过氧化物酶（HRP）标记的山羊抗兔/山羊抗小鼠 IgG 聚合物与结合在组织片上的一抗反应形成免疫复合物，聚合物上的 HRP 催化底物 H_2O_2 与 DAB（或 AEC）反应，最终形成棕褐色（或红色）不溶性色原，从而在显微镜下显示出组织片中的特定抗原的位点。

产品组成成分

名称	AWI0629a 3ml	AWI0629b 6ml	AWI0629c 18ml	AWI0629d 55ml
试剂A：内源性过氧化物酶阻断剂	3ml	6ml	18ml	55ml
试剂B：超敏酶标山羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物	3ml	6ml	18ml	55ml

注：本产品未提供如下试剂和耗材：二甲苯、乙醇（无水、95%、75%）、去离子水、中性树胶、一抗、质控组织片、苏木素染色液、PBS 缓冲液、修复液等。

保存条件

2~8℃ 避光保存，产品有效期为 18 个月。

效期内可在 0~30℃ 范围 7 天内短时运输。

使用时即拿即放，单支试剂使用后应立即放回冰箱，开封后试剂有效期 6 个月。

使用方法

1、检验所需仪器、设备：移液器、恒温箱、修复仪、免疫组化笔、计时器、孵育盒、染色架、盖玻片、光学显微镜、洗瓶。

2、操作程序：

a) 脱蜡和水化

石蜡切片置于新鲜二甲苯中，浸泡 15 min×3 次；去除多余的液体后，置于无水乙醇中，浸泡 10 min×2 次；去除多余的液体后，置于 95%、85%、75% 乙醇中，浸泡 5 min；蒸馏水冲洗 1 min，置于 PBS 缓冲液中。

b) 抗原修复，参见一抗说明书。

c) 阻断内源性过氧化物酶

加入适量的内源性过氧化物酶阻断剂，室温孵育 15min；PBS 缓冲液冲洗 3min×3 次。

d) 滴加一抗

根据组织大小，滴加 100μL 或适量的一抗，37℃ 孵育 60min 或 2~8℃ 孵育过夜；PBS 缓冲液冲洗 3min×3 次。

e) 滴加超敏酶标山羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物

滴加 100μL 或适量的酶标羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物，37℃ 孵育 30~45min；PBS 缓冲液冲洗 3min×3 次。

f) DAB 显色

加入适量新鲜配制的 DAB 或 AEC 显色液，室温孵育 5~8min。

g) 复染

自来水冲洗，苏木素染色液孵育 20~60 秒；分化、冲洗返蓝。

h) DAB 显色后用酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片；AEC 显色后用水溶性封片剂封片。

3、结果判定，染色结果在光学显微镜下观察并进行判读。

结果判断

阳性：检测组织目标细胞的目的抗原可观察到棕黄色（DAB 显色）或红色（AEC 显色）。

阴性：检测组织目标细胞的目的抗原未观察到棕黄色（DAB 显色）或红色（AEC 显色）。

检测方法的局限性

- 1、免疫组织化学染色是一种需通过多个操作步骤完成的检测过程。在组织前期处理和实验过程中的不规范操作，有可能影响实验结果。
- 2、红细胞和细胞色素 C 可能会造成假阳性结果。
- 3、阴性结果表示未检出抗原，不一定表示样本中无该抗原存在。待测抗原编码基因变异、抗原低表达或抗原修复不当等，都会造成抗原无法检出。

产品性能指标

- 1、装量：试剂盒各组分的溶液装量应不少于标示装量。
- 2、符合性：取符合性组织片（包括阳性组织对照和阴性组织对照），经相应的免疫组化实验后，应阳性着色定位准确，且无背景染色；同时，空白对照和阴性对照染色结果为阴性。
- 3、批内重复性：取同一批次的试剂盒，检测组织片 3 片，染色强度和定位无明显差异。

注意事项

- 1、样本应及时固定，避免抗原丢失。
- 2、应用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。
- 3、染色液中的 DAB 底物液为致癌物质，操作中应采用合理的防护措施。
- 4、若将本染色液中的组分与其他公司的产品混合使用，在染色过程中可能出现异常情况。
- 5、超过有效期的试剂活性可能降低，因此不得使用过期的试剂盒。
- 6、脱蜡不彻底，容易影响染色效果，建议免疫组化切片脱蜡与常规 HE 脱蜡分开。
- 7、为防止可能出现的假阳性、假阴性结果，在实验过程中需设置阳性与阴性对照。
- 8、实验中滴加试剂时，过多的 PBS 缓冲液会导致试剂被稀释，将引起染色强度变弱，因此，滴加试剂前应除去多余的缓冲液。
- 9、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。
- 10、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。