

抗体洗脱液（mIHC 专用）

货号：RM02984

规格：30mL

◆ 产品简介

本产品抗体洗脱液适用于石蜡切片、冰冻切片、骨组织切片、细胞爬片等常规样品，TSA 染色过程中的抗体洗脱。

◆ 保存条件

室温保存，12 个月有效。

◆ 操作步骤

1、样本准备：

1) 石蜡切片：依次将切片放入二甲苯 I 15min-二甲苯 II 15min-无水乙醇 I 5min-无水乙醇 II。取出放在通风橱内，酒精晾干后放入自来水中水洗，蒸馏水再次水洗。

2) 冰冻切片：冰冻切片固定 10-30min，PBS 洗 5min 重复 3 次，滴加破膜液通透 20min，PBS 洗 5min 重复 3 次。

3) 细胞爬片：细胞爬片固定 10-30min，PBS 洗 5min 重复 3 次，滴加破膜液通透 20min，PBS 洗 5min 重复 3 次。

2、抗原修复：组织切片置于盛满 PH9.0 EDTA 碱性抗原修复液或者 PH6.0 柠檬酸修复缓冲液的修复盒中于微波炉内进行抗原修复（也可以用高压 1-2min 100℃水煮 15min 95℃水浴 20min 等其他热

修复方法)。自然冷却后将玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5min。(修复液和修复条件根据组织类型以及抗原类型来确定, 冰冻切片和细胞爬片省略此步骤)。

3、阻断内源性过氧化物酶: 滴加 3%过氧化氢溶液, 室温避光孵育 25 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 5min。

4、BSA 封闭: 用组化笔在组织周围画圈 (防止抗体流走), 在圈内滴加用 3%BSA-PBS (或者其他封闭液) 均匀覆盖组织, 室温封闭 30min。

5、加一抗: 弃封闭液, 滴加用抗体稀释液稀释好的的一抗 X, 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)。

6、加 hrp 二抗: PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5min。滴加与一抗相应种属的 hrp 二抗覆盖组织, 避光室温孵育 50min, PBS 洗三次。

7、荧光染料反应: TYRXXX 荧光染料反应 2-15min, PBS 洗三次。

8、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 5-20min, 弃去洗脱液, 再次滴加适量抗体洗脱液覆盖样本 37℃放置 5-20min, 弃洗脱液, PBS 洗三次, 每次 5min

9、重复 3-7 步骤 (换用另外一种 TYRXXX 荧光染料)

10、DAPI 复染细胞核: PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5min。滴加 DAPI 染液, 避光室温孵育 10min。

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

12、镜检拍照: 玻片于荧光显微镜/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。(洗脱难度: 结构性膜蛋白和细胞骨架蛋白 > 胞浆蛋白 > 胞核蛋白)。4~8μm 切片通常于湿盒中 37℃

处理 10~40min 即可。

2. 如果有些抗体的洗脱有问题，可降低一抗稀释比例，或者将这些抗体放在 TSA 最后一轮做。
3. 抗体洗脱液容易流出，如果发现流出需及时补充。
4. 每次使用前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
5. 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 或者柠檬酸 6.0 修复液洗脱抗体。
6. 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。
7. 没有固定的切片不适合抗体洗脱液操作。
8. 应采用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。如不慎接触到敏感区域，立即用大量清水冲洗。
9. 本产品仅限科研使用。