

Polymer HRP (Mouse/Rabbit) IHC Kit (DAB)(EK10004)

【产品名称】

- 1、通用名称：Polymer HRP 羊抗鼠/兔 DAB 显色试剂盒 系列
- 2、英文名称：Polymer HRP (Mouse/Rabbit) IHC Kit (DAB)

【包装规格】

3mL/盒 10mL/盒

【预期用途】

免疫组织化学染色，配合CELLCOOK 常规小鼠/兔来源的浓缩型或即用型一抗使用。

【作用原理】

数个辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗鼠/兔 IgG 聚合物分子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 催化显色底物 DAB 形成棕褐色不溶物，从而在显微镜下显示出组织片中的特定抗原的位点。

【主要组成成份】

名称	规格		保存温度
	3mL	10mL	
灭活封闭二合一溶液	避光滴瓶 3mL	避光滴瓶 10mL	2-8℃
增强剂	白色滴瓶 3mL	白色滴瓶 10mL	2-8℃
Polymer HRP (Mouse/Rabbit)	白色滴瓶 3mL	白色滴瓶 10mL	2-8℃
DAB 底物缓冲液	避光滴瓶 3mL	避光滴瓶 10mL	2-8℃
浓缩 DAB 溶液 20×	棕色离心管 0.15mL	棕色离心管 0.5mL	2-8℃
DAB 配液瓶	白色滴瓶 1 瓶	白色滴瓶 1 瓶	2-8℃

【储存条件及有效期】

- 1、储存要求：2℃~8℃密封保存。
- 2、有效期：12 个月。

注意：若 polymer 中出现少量沉淀，可离心取上清或直接使用，不影响染色效果。

【样本要求】

新鲜活检或外科样本组织，甲醛固定，固定时间 8-24 小时要求取材、脱水、石蜡包埋并制成蜡块。配合 CELLCOOK 常规浓缩型或即用型一抗使用。

【检验方法】

- 1、人体组织样本先经甲醛固定。
- 2、固定后的组织经过脱水等一系列操作制备成蜡块。
- 3、用切片机把组织蜡块切成切片。
- 4、手工法/自动组化仪免疫组化实验。

常规手工法推荐步骤如下：

4.1 将需要进行实验的组织切片取出，插入玻片架上后放入 60-65℃的烤箱中，烤片 1-1.5h。

4.2 将切片置于以下染色缸中梯度反应：

- 二甲苯 10 分钟×2 次
- 二甲苯 5 分钟
- 无水乙醇 5 分钟×2 次
- 95%乙醇 5 分钟

85%乙醇 5 分钟

PBST 清洗 3 分钟×3 次

4.3 抗原修复（方法见一抗供应商，或采用常规高压、微波、酶修复等）

4.4 根据组织大小直接滴加**灭活封闭二合一**溶液到组织上，直至完全覆盖组织即可，通常为 50-100uL。室温 15 分钟，PBST 清洗 3 分钟×3 次。

4.5 根据组织大小滴加一抗到组织上，通常为 100uL，直至完全覆盖组织。湿盒室温孵育30-60 分钟。PBST 清洗3 分钟×3 次。（一抗的最佳反应时间因制造商不同可能略有差异）

4.6 可选步骤：根据组织大小滴加**增强剂**到组织上，直至完全覆盖组织即可，通常为 50-100uL。室温 20 分钟，PBST 清洗 3 分钟×3 次。本步骤通常在自动组化仪中加入，手工法中增强剂可以根据显色效果选择是否加入，增强剂可增强**小鼠来源**一抗信号 1-10 倍。

5、根据组织大小滴加 **Polymer HRP (Mouse/Rabbit)** 到组织上，直至完全覆盖组织即可，通常为 50-100uL。室温 30 分钟。PBST 清洗 3 分钟×3次。

6、DAB 显色：DAB 显色液需用现配。

配制方法，以 1mL 显色液为例：在 DAB 配液瓶或其他容器中依次加入 1mL **DAB 底物缓冲液**，50uL **浓缩 DAB 溶液**后混匀。根据组织大小滴加 1-2 滴在组织，直至完全覆盖组织即可，通常为 50-100uL，室温 3-10 分钟。

7、自来水冲洗终止显色，加入苏木素溶液中复染；分化、冲洗反蓝。

8、酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片后阅片。

自动组化仪推荐设置如下：

Peroxide Block: 10 分钟 灌注灭活封闭二合一溶液

Reaction Enhancer: 20 分钟 灌注增强剂

Polymer: 30 分钟 灌注 Polymer HRP (Mouse/Rabbit) 溶液

Mixed DAB Refine: 5 分钟 不接洗涤步骤

Mixed DAB Refine: 5 分钟 下接洗涤步骤

注：1 在不同机型上 Reaction Enhance 的名称可能不同，其他可能名称为 Linker，Post primary 等。

2 灌注浓缩 DAB 溶液在浓缩 DAB 试剂瓶中，通常名称为 DAB part1。灌注 DAB 底物缓冲液在 DAB 试剂瓶中，通常名称为 DAB partB。

【产品性能指标】

1、符合性：阳性对照结果为阳性，阳性着色的定位应准确，无背景着色；空白对照和阴性对照染色结果为阴性。

2、批内重复性：同一组织来源的组织切片染色的强度和定位无明显差异。

3、批间重复性：不同批号试剂对同一组织来源的组织片染色的强度和定位无明显差异。

【注意事项】

1、本品仅用于科研，不做其他用途。

2、需专业人员使用。

3、应用适当防护措施，避免试剂同皮肤和眼睛接触。

4、废液处理：进行无害化处理，并符合相关的环保要求。