

Polymer-HRP羊抗兔聚合物法组化试剂盒说明书

【产品货号】GPV8002

【包装规格】3ml、6ml、18ml

【预期用途】在免疫组化反应中与一抗结合，或在原位杂交检测中与首要探针结合，通过显色，对靶点进行标记。

【检验原理】本试剂基于免疫组织化学检测原理：切片经抗原热修复后与一抗试剂进行孵育，在原位形成一抗与目标抗原的抗原-抗体复合物；抗原-抗体复合物中一抗分子再与辣根过氧化物酶（HRP）标记的聚合物二抗通过孵育结合，在原位进一步形成抗原-抗体-二抗聚合物的复合物；最后通过HRP催化二氨基联苯胺（DAB）在抗原部位形成棕色沉积物。光学显微镜下通过观察棕色部位来确定是否有目标抗原及其表达情况。

【组成成分】

组分名称	3ml	6ml	18ml	保存条件
过氧化物酶封闭液	3ml	6ml	18ml	2-8℃、避光保存
Polymer-HRP 羊抗兔聚合物	3ml	6ml	18ml	2-8℃保存

注：Polymer-HRP 羊抗兔聚合物久置可能会出现不同程度的颗粒沉淀，这是稀释液中保护剂的析出，不影响使用效果。

【储存条件及有效期】

- 1、试剂盒于2~8℃储存，有效期为12个月，应避免强光照射。
- 2、试剂盒生产日期及有效期见产品外包装标签。
- 3、试剂盒在泡沫箱中放入冰袋，箱体密封后，可在常温下运输且时间不超过一周。

【免疫组化实验方法】

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 5min-95%乙醇 5min-85%乙醇5min-75%乙醇5min，蒸馏水洗。
- 2) 冰冻切片：冰冻切片固定10-30min，PBS洗5min，重复3次，滴加0.3%TritonX-100破膜液通透20min（检测膜表达蛋白可省略此步），PBS洗三次，每次5min。
- 3) 细胞爬片或者细胞涂片：细胞样本固定10-30min，PBS洗5min重复3次，滴加0.3% Triton X-100破膜液通透20min（检测膜表达蛋白可省略此步），PBS洗三次，每次5min。

2、抗原修复：组织切片置于盛满pH9.0EDTA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中火8min，停火8min，转中低火7min进行抗原修复，此过程中应防止缓冲液过度蒸发，切勿干片。（也可以用高温高压冒大气1-2min或100℃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。（注：冰冻切片/细胞爬片可省略此步骤，骨组织等容易脱片的样本建议用酶修复或者水浴修复等温和的修复方法）

3、阻断内源性过氧化物酶：切片滴加过氧化物酶封闭液溶液，室温避光孵育15min，将玻片置于PBS（pH7.4）中在脱色

摇床上晃动洗涤3次，每次5min。

- 4、非特异性靶点封闭:**切片稍甩干后用免疫组化笔在组织周围画圈（防止封闭液及抗体流走），在圈内滴加用封闭用正常山羊血清或者其他封闭液 3%BSA溶液均匀覆盖组织，室温封闭30min。
- 5、孵育特异性一抗:**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℃孵育1-2h（湿盒内加少量水防止抗体蒸发）；
- 6、孵育 Polymer-HRP 羊抗兔聚合物:**玻片置于PBS（pH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤3次，每次5min。切片稍甩干在圈内滴加与一抗相应种属的**Polymer-HRP二抗**覆盖组织，室温孵育20-30min，PBS洗三次，每次5 min。
- 7、DAB 显色或 TSA 荧光染料染色(根据 DAB 显色试剂盒(货号:GDAB9001 或 TSA 荧光染料染色操作说明)：**

DAB 显色工作液配制（即配即用）：根据需要量，将试剂 A 和试剂 B 以 1: 19 的体积比混匀后即为DAB显色工作液。也可选择每毫升试剂B中滴加1滴（约50 μ l）试剂A，混匀即可。
- 8、组织切片或细胞爬片显色:**加适量的DAB显色工作液于需要显色的组织切片或细胞爬片上即可显色，显色时间一般为1-10分钟。显微镜下观察控制显色时间，当达到最佳显色效果后，自来水冲洗终止显色。显色后的切片经复染、脱水透明，封片后可长期保存。
- 9、复染、脱水、透明、封片、镜检。（根据需要选择步骤）**

【阳性判断值或参考区间】

该试剂盒为染色试剂，无特定参考区间。

【检验结果的解释】 染色结果必须建立在阳性对照和空白对照实验成立的基础上：

阳性：显示对应显色或荧光为抗原部位，阴性：无对应显色或荧光染色为非靶抗原部位。

【检验方法的局限性】

- 实验操作任一环节的不规范操作都可能影响最终的实验结果。
- 专业的操作人员、经过认证的实验室将有助于实现检测过程的标准化，从而减少各种外界因素造成的染色偏差。
- 在测试中如出现阴性结果，表示未检测出抗原，而不是经测定的细胞或者组织中不存在该抗原。

【产品性能指标】

1、外观

本产品外观应整洁，完好无损。

2、净含量

其净含量不低于标示量。

3、pH值

过氧化物酶封闭液应呈酸性pH值应在3.0-4.0之间；其它成分呈中性pH值应在7.0-7.4之间。

【注意事项】

- 本试剂仅用于科学研究，不用于临床诊断。
- 开始实验前，应仔细阅读此说明书。
- 本试剂仅限有专业经验或经专业培训的人员使用。
- 避免试剂接触眼睛和粘膜，如接触到敏感区域，立即用大量清水冲洗。
- 试剂盒除了手工操作进行检测，也可在全自动多色免疫荧光染色仪上使用。

官方网址：<http://www.genesion.com.cn>

订货热线：4006169114、020-84224925

Email: whiga22@126.com

