

SABC(兔 IgG)-AP Kit 说明书

货号：SA0022

保存：-20℃。

试剂盒组成：

- | | |
|---------------------|--------|
| 1, 封闭液 (5%BSA): | 10ml. |
| 2, Bio-羊抗兔 IgG 浓缩液: | 100ul. |
| 3, SABC-AP 浓缩液: | 100ul. |
| 4, 稀释液: | 30ml. |
| 5, 1×AP 反应缓冲液: | 30ml |
| 6, 25×BCIP: | 1ml |
| 25×NBT: | 1ml |

产品说明：

本试剂盒适合于—抗为兔 IgG 的免疫组化实验 AP 显色。

SABC 是专为免疫组化和其他免疫检测而设计的，用以显示组织和细胞中抗原分布。链霉亲和素(StreptAvidin)是一种从链霉菌中提取的蛋白质，同亲和素一样，对生物素有极高的亲和力，亲和素是一个碱性蛋白质 (IP=10)，经改造后可以转变成中性蛋白质。链霉亲和素等电点接近中性，对组织和细胞的非特异吸附很低，基于链霉亲和素的免疫组化方法背景很低。SABC 即 StreptAvidin—Biotin Complex。SABC 大约可形成一百个左右的过氧化物酶和五十个左右的链霉亲和素所构成的复合物。大量的酶将保证 SABC 具有很高的敏感性。

实验步骤：(以石蜡切片为例，仅作参考)

1. 切片常规脱蜡至水(三次二甲苯，三次乙醇)。
2. 可选步骤：a、热修复抗原， b、酶消化， c、跳过此步，直接进入下一步。
3. 滴加 5%BSA 封闭液,室温 20 分钟。甩去多余液体，不洗。
4. 用稀释液将一抗按一定比例稀释 (稀释后的一抗 4℃可保存一周)，也可另行购买抗体稀释液。滴加稀释的一抗 37℃ 1 小时左右或 20℃时 2 小时左右。也可 4℃过夜。PBS (pH7.2-7.4) 洗 2 分钟×3 次。(一抗的稀释度、孵育时间和温度与染色强度、背景有直接关系。具体稀释度和孵育时间参考一抗生产厂家说明书。)
5. 根据用量，用稀释液将 Bio-羊抗兔 IgG 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1ml 稀释液加入 10ul Bio-羊抗兔 IgG 浓缩液混匀。此工作液 4℃可保存一周)。滴加 Bio-羊抗兔 IgG 工作液,20-37℃ 30 分钟。PBS (pH7.2-7.4) 洗 2 分钟×3 次。
6. 根据使用量，用稀释液将 SABC-AP 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1ml 稀释液加入 10ul SABC-AP 浓缩液混匀。此工作液 4℃可保存一周)。滴加 SABC-AP 工作液，20-37℃，30 分钟。PBS (pH7.2-7.4) 洗 5 分钟×4 次。
7. 根据用量，1ml AP 缓冲液中加入 40ul NBT 溶液，混匀后再加入 40ul BCIP 溶液。此工作液现用现配。室温显色，镜下控制反应时间。蒸馏水洗涤终止反应。

* 对于冰冻切片，固定后，PBS 漂洗两次，接上述第二步。

注意事项：

如果染色背景过高，在 SABC 反应之后，AP 显色之前，用加有 0.01—0.02% TWEEN-20 的 PBST (pH7.2-7.4) 洗涤切片 4 次，PBS 洗 2 次，然后 AP 显色。因为免疫组化指标众多，标本不一，此步骤仅作参考。