



免疫组化试剂盒(抗小鼠二抗)

版本号: V1.1-202206

一、产品规格

产品组成	BLRE147-200T	BLRE147-1000T
DAB 稀释液	12.5 mL	62.5 mL
50×DAB 原液	250 μL	1.25 mL
HRP 标记山羊抗小鼠二抗	100 μL	500 μL

二、产品情况

本试剂盒为高灵敏度的两步法免疫组化试剂盒，适用于一抗来源为小鼠的抗体的后续显色。试剂盒中包含辣根过氧化物酶 HRP 偶联标记的山羊抗小鼠 IgG 与 DAB；在 WB、IHC 实验中，HRP 标记的山羊抗小鼠二抗与小鼠来源一抗（先与抗原反应）结合后，再与 DAB 反应。DAB 是辣根过氧化物酶（HRP）的底物，在 HRP 的催化下，DAB 产生棕色沉淀，实现信号放大和显色。

三、储存运输

冰袋运输；DAB 稀释液和 50×DAB 原液 4℃保存，二抗-20℃保存；有效期 12 个月。

四、注意事项

- （一）如果免疫组化显色时出现背景过深的情况，可考虑选择以下操作：考虑延长洗涤时间，使用适当的封闭液进行封闭，灭活内源性过氧化氢酶，缩短显色时间，降低二抗浓度等；
- （二）如果免疫组化显色时出现没有显色或显色太浅的情况，可考虑选择以下操作：适当提高一抗、二抗浓度，延长显色时间，其次检测二抗是否被正常显色；
- （三）DAB 对人体有害，操作时请小心做好防护，避免直接接触人体或吸入体内。

五、实验流程

（一）准备工作

1. 自备 PBS、梯度酒精、二甲苯、封片剂、细胞核复染试剂（推荐苏木素染液 BLRE004、苏木素分化液 BLRE025、苏木素返蓝液 BLRE026）等；
2. 二抗工作液配制：使用 PBST（pH 7.2-7.4）以 1:200 比例稀释 HRP 标记山羊抗小鼠二抗，得到二抗工作液。按需配制，现配现用，保存时间不多于 48 h；
3. DAB 显色工作液配制：20 μL 50×DAB 原液加入 1 mL DAB 稀释液中，混匀备用。按需配制，现配现用。



(二) 实验步骤

1. 按照常规免疫组化步骤，组织切片经前期脱蜡、抗原修复、封闭、一抗孵育后，经 PBS 洗三次，每次 5 min；
2. 二抗孵育：每张切片上滴加 50-100 μL 二抗工作液完全覆盖组织，室温孵育 30-60 min。经 PBS 洗三次，每次 5min；
3. DAB 显色：每张切片上滴加 50-100 μL DAB 工作液，室温孵育数分钟，通过显微镜下观察控制显色至预期效果，然后立即水洗终止显色；
4. (可选) 细胞核复染：切片经苏木素染液染色 3-5 min，自来水洗；经苏木素分化液快速分化 3-5 s，自来水洗；自来水冲洗返蓝或经苏木素返蓝液返蓝 3-5 s；
5. 封片：切片按常规步骤经梯度酒精脱水，二甲苯透明，中性树脂封片。

本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断！