

# HRP 酶标记羊抗兔 IgG 聚合物说明书

## 【产品名称】

中文名称：HRP 酶标记羊抗兔 IgG 聚合物

英文名称：Goat anti-rabbit IgG(H&L) HRP polymer

【包装规格】10mL/瓶、100mL/瓶；

【预期用途】在免疫组化反应中与一抗结合，通过染色，将靶点进行标记。

【检测原理】HRP 酶标记羊抗兔 IgG 聚合物识别连接组织切片上的一抗；再加入 DAB 显色液，聚合物上的过氧化物酶可以催化 DAB 显色液中的底物分解，使联苯胺氧化变成联苯亚胺，使组织切片中一抗结合的抗原位点出现棕色着色。

【主要组成成分】纯水 $\geq 95\%$ 、牛血清白蛋白 $\leq 1.0\%$ 、氯化钠 $\leq 0.9\%$ 、HRP 酶标羊抗兔 IgG。

【储存条件及有效期】本产品 2~8℃ 储存，有效期为 12 个月。

采用泡沫箱加冰袋密封的运输方式，时间不大于 7 天，开箱温度不超过 30℃，产品性能无影响。（使用时应立即拿即用，使用后应立即放回冰箱。）

【适用范围】适用于人工手动操作或全自动免疫组化染色机自动操作。

【样本要求】新鲜活检或 10% 中性福尔马林固定的病人组织，参照病理技术规范要求取材、固定（8-24 小时为宜）、脱水、石蜡包埋并制成蜡块。建议组织切片厚度为 3~5 $\mu\text{m}$ ，室温下保存并于 10 天内完成实验检测以确保组织中抗原分布情况的良好重现。

## 【使用方法】

### 1. 准备工作：

- 1) 仪器设备：电磁炉，不锈钢高压锅，孵育盒，计时器，免疫组化笔，移液器，染色架，盖玻片，洗瓶，光学显微镜等；
- 2) 溶液配制：各溶液的配制可参见相关说明书；
- 3) 反应温度：室温（18℃~37℃）；

### 2. 操作步骤：

- 1) 样本准备：将切片于 60℃ 恒温箱中烤片 2 小时，室温保存备用。
- 2) 脱蜡与水化：
  - a. 石蜡切片置于新鲜二甲苯中，浸泡 15 分钟 x2 次。
  - b. 石蜡切片依次置于梯度酒精中（100%，95%，85%，70%），每次 3 分钟。
  - c. 纯化水冲洗 1 次，PBS 冲洗 2 次，每次 3 分钟。
- 3) 抗原修复：参照一抗说明书进行。
- 4) 内源性过氧化物酶灭活：甩掉多余液体，用免疫组化笔将组织圈住，应用 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液对切片进行室温孵育 15 分钟，PBS 冲洗 2 次，每次 3 分钟。
- 5) 一抗及亚型对照抗体孵育：加入 1-3 滴即用型抗体或相应的亚型对照抗体完全覆盖组织，37℃ 湿盒孵育 60 分钟。PBS 冲洗 3 次，每次 3 分钟。
- 6) 二抗孵育：加入 1-3 滴 HRP 酶标羊抗兔 IgG 聚合物完全覆盖组织，37℃ 湿盒孵育 30 分钟，PBS 冲洗 3 次，每次 3 分钟。
- 7) DAB 显色：加 1 滴 DAB 显色液到 1mL DAB 缓冲液（高对比度）中，依据颜色变化显色 1-3 分钟，纯化水冲洗终止显色。  
注意：配制好的 DAB 显色液需在 6 小时内使用，否则会影响显色效果。
- 8) 苏木素衬染：苏木素染色 5 分钟，PBS 冲洗返蓝。
- 9) 脱水透明：依次浸泡梯度酒精 70%，85%，95%，100%，每次 3 分钟。二甲苯透明 10 分钟。
- 10) 封片：用中性树胶对样品进行封片。
- 11) 结果分析：光学显微镜下观察免疫组化染色结果，结果分析应由有资质的病理医师判断。

## 【检测结果的解释】

1. 抗原修复条件，抗体孵育时间，抗体孵育温度及显色时间不合适均有可能得出错误的结果。
2. 在每一次染色过程中，必须有对照实验同时进行。

3. 实验操作正常情况下，若阴性对照出现阳性染色结果，则判为假阳性，该批实验数据无效。建议重新实验或联系试剂生产厂家排查原因。
4. 如果阳性组织对照不能显示适当的阳性染色，使用者应认为该批次测试样本的结果无效。
5. 若 HRP 酶标羊抗兔 IgG 聚合物孵育温度过高或孵育时间过长，可能导致染色过强及背景染色。

#### 【检测方法的局限性】

本试剂仅供科研使用，免疫组化作为一种多步骤的实验技术手段，组织的固定处理方式，切片厚度，试剂的选择中的任一环节的不当操作都有可能影响染色结果。同时，细胞核的不恰当的衬染强度也会影响结果的判读。

#### 【产品性能指标】

产品性能符合本公司制定的相关技术要求。

#### 【注意事项】

1. 本产品仅用于免疫组化，不做其他用途。
2. 本产品仅限专业人员使用。
3. 应用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。
4. 超过有效期的试剂活性可能降低，因此不得使用过期的产品。
5. 脱蜡不彻底，容易影响染色效果，建议免疫组化切片脱蜡与常规 HE 脱蜡分开。
6. 本染色液是否应用于冷冻切片及细胞涂片还未得到证实。
7. 为防止可能出现的假阳性、假阴性结果，在实验过程中需设置阳性与阴性对照。
8. 实验中滴加试剂时，过多的缓冲液会导致试剂被稀释，将引起染色强度变弱，因此，滴加试剂前应除去多余的缓冲液。
9. 使用中所产生的各种废弃物都应按《医疗废物管理条例》处理。