

多重荧光免疫组化染色试剂盒

Catalog # ADK003

Product Information

Description	免疫组化染色是一种研究组织形态和原位蛋白表达的常见技术、随着免疫治疗的崛起，越来越多肿瘤微环境种的标志物被发现与疾病治疗、进展密切相关、对这些标志物进行同时染色标记、并研究它们之间的共定位、表达量和距离关系成为肿瘤免疫研究的普遍需求。
Packing Specification	10片试剂盒；50片试剂盒；100片试剂盒

Additional Information

Detection Principle	类似常规免疫组化的 DAB 显色法，TSA 技术同样采用 HRP 标记的二抗，HRP 催化加入体系的荧光素底物，生成活化荧光底物，活化底物可与抗原上的酪氨酸共价结合，使样品上稳定地共价结合荧光素。之后用热修复法洗去非共价结合的抗体，再换下一种一抗进行第二轮孵育、换另一种荧光素底物，如此往复就可实现多重标记。
Main Components	TSA、DAPI、信号放大反应液、Polymer HRP 标记 二抗
Storage	母液需-20℃储存，荧光染料需避光保存，稀释液2-8℃保存。
Sample Requirements	1.可用于人的FFPE样本检测。 2.福尔马林固定的蜡块或玻片，大块组织或TMA都可以，封蜡不能有明显的破损。 3.玻片样本，组织需要紧贴玻片，避免褶皱，玻片不能有破损、划伤或污渍。 4.切片厚度为4um左右，使用防脱载玻片。样本应置于玻片正面、中央。
Usage Method	【多重荧光免疫组化染色step-by-step，FFPE样本，手工染色步骤】 注意：本实验操作大约需耗时6h，如需中途停止可选择以下步骤：* 抗原修复处理后，在修复液中室温冷却。* 4℃封闭。* 4℃一抗孵育。 1.样品脱蜡准备：a) 温箱设置到60℃，烤片0.5h以上。b) 新鲜二甲苯浸片10min，重复2次。c) 梯度乙醇浸片：100%3min；100%3min；95%3min；75%3min。d) 灭菌水洗片1min，重复3次。 2.多重荧光免疫组化染色步骤：第一轮C1：C1.1 抗原修复：把1×抗原修复液倒入修复杯中，微波炉高火加热3min。将脱蜡后的玻片放置于修复杯中，低火继续加热15min后冷却至室温。注：进行该步骤前建议不放样品进行一次预实验，检测15min后液面是否高于样品，避免干片。抗原修复液不能重复使用。C1.2 灭活：去除玻片上残存洗液，用免疫组化笔把组织圈起来，1×TBST浸洗玻片，滴加3%双氧水浸没样本，室温灭活10min。C1.3 清洗：1×TBST浸洗玻片3次，每次2min。C1.4 一抗孵育：用抗体稀释液按照说明书浓度稀释一抗，加一抗工作液，使其完全覆盖样本、室温孵育30min或者更长的时间（需针对不同抗体做优化调整）。用1×TBST浸洗玻片3次，每次2min。C1.5 二抗孵育：去除玻片上的洗液，滴加HRP二抗工作液，浸没样本区域。室温孵育10min，用1×TBST浸洗玻片3次，每次2min。C1.6 荧光染色信号放大：去除玻片上的洗液，滴加1×TSA荧光染料染色工作液，浸没样本区域。室温孵育10min，用1×TBST浸洗玻片3次，每次2min。 重复C1.1—C1.6操作，进行后续多轮染色。每轮染色结束后可用荧光显微镜确认染色情况，注意用TBST覆盖玻片，防止干片。 3、封片：滴加抗荧光淬灭封片剂，用盖玻片封片，避免气泡，长期保存请用透明指甲油对盖玻片边缘进行密

封。4、成像：选用合适的成像设备按照【检验设备】的条件设置成像设备对染色后的组织片在荧光显微镜下观察并进行判读。

【多重荧光免疫组化染色step-by-step，FFPE样本，仪器染色步骤】1、烤片与脱蜡 60℃烤片30 min，脱蜡液42℃孵育30 s后，30℃继续孵育1min。2、抗原修复 EDTA修复液100℃下孵育20 min。3、荧光染色 过氧化物酶阻断剂室温孵育10 min，清洗液洗两次；一抗溶液室温孵育20 min，清洗液洗两次；二抗溶液孵育10 min，清洗液洗两次；荧光染液孵育10 min，清洗液洗两次。4、重复2、3步骤进行循环染色。5、取出玻片DAPI室温染色10 min。6、封片：滴加抗荧光淬灭封片剂，用盖玻片封片，避免气泡，长期保存请用透明指甲油对盖玻片边缘进行密封。7、成像：选用合适的成像设备按照【检验设备】的条件设置成像设备对染色后的组织片在荧光显微镜下观察并进行判读。

Explanation

1、染色过程中，需设置组织阳性对照和试剂阴性对照同时进行。2、阳性信号定位不正确即为假阳性，包括着色不匀、背景染色、边缘效应。组织的某些特定成分也会导致假阳性。3、如果信号太强或者背景偏高请减少荧光信号放大步骤（C1.6）的反应时间至1-3分钟，或降低一抗浓度，或减少一抗孵育时间。4、抗原修复方法不当或一抗失效，均可能导致假阴性结果。5、如需进行冰冻切片样本实验，无需做第一步抗原修复，并需使用特殊的冰冻切片抗体洗脱液，详情请咨询百道医疗科技有限公司。

Limitation

1、本试剂盒只用于免疫组化，不做其他用途。
2、本试剂盒仅限专业人员使用。
3、应使用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。
4、请在实际有效期内使用。5、若将本试剂盒的染色组分与其他公司的产品混合使用，在染色过程中可能会出现异常情况。6、为了防止可能出现的假阴性、假阳性结果，实验过程需设置阳性对照和阴性对照同时进行。

Please note: All products are 'FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC PROCEDURES'.