



## 免疫显色试剂盒（两步法，5 组分）

### 产品说明书

#### 【产品名称】

免疫显色试剂盒（两步法，5 组分）

#### 【产品货号】

CSK4003

#### 【主要组成成分】

| 组成   | 成分          | 规格              |                  |                   |                    |
|------|-------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|
|      |             | CSK4003-<br>2mL | CSK4003-<br>20mL | CSK4003-<br>100mL | CSK4003-<br>1000mL |
| 试剂 1 | 内源性过氧化物酶封闭剂 | 2mL             | 20mL             | 100mL             | 1000mL             |
| 试剂 2 | 一抗后放大剂      | 2mL             | 20mL             | 100mL             | 1000mL             |
| 试剂 3 | HRP 酶标二抗聚合物 | 2mL             | 20mL             | 100mL             | 1000mL             |
| 试剂 4 | DAB 底物（20X） | 0.1mL           | 1.5mL            | 6mL               | 1000mL             |
| 试剂 5 | DAB 底物缓冲液   | 2mL             | 20mL             | 100mL             | 1000mL             |

#### 【预期用途】

该试剂仅供科研使用。主要用于免疫组织化学的显色反应。

#### 【检测原理】

本产品由葡聚糖为骨架偶联多个 HRP 酶分子以及抗体分子聚合而成聚合物。该聚合物增加了二抗的酶标密度，为免疫组织化学染色创建了一个高灵敏度、即用型的非生物素检测系统。一抗后放大剂（linker）与一抗抗体结合之后，聚合物再与 linker/一抗结合，起到信号放大效果，经辣根过氧化物酶催化二氨基联苯胺（DAB）在抗原部位形成棕色沉淀。

#### 【储存条件及有效期】

2~8℃ 储存，避免冰冻。有效期为 12 个月。

#### 【检验方法】

##### 1. 检验所需仪器、设备

移液器、免疫组化油笔、计时器、干燥箱、孵育盒、染色架、盖玻片、光学显微镜、洗瓶。

##### 2. 溶液配制

DAB 显色液：使用 DAB 底物缓冲液将 DAB 底物（20X）稀释 20 倍。避光存放，现配现用。

##### 3. 试验温度条件：

室温，20~25℃

##### 4. 实验步骤

##### 4.1 脱蜡和水化

石蜡切片置于新鲜的二甲苯中，浸泡 2 次，10min/次，；  
除去多余的液体后，置于无水乙醇中，浸泡 2 次，5min/次，；  
除去多余的液体后，置于 95%乙醇中，浸泡 5min；  
除去多余的液体后，置于 85%乙醇中，浸泡 5min；  
自来水冲洗 3 次，3min/次。

##### 4.2 抗原修复：

参照一抗抗体说明书进行。

##### 4.3 加内源性过氧化物酶封闭剂

将抗原修复后的切片用自来水冲洗 3 次，3min/次，用油笔圈定玻片上的待测组织区域，TBS 清洗液冲洗 1 次，3min/次；除去 TBS 清洗液，在样本区域加入 80-100μL（试剂量视切片大小，以完全覆盖切片组织为宜，前后试剂量保持一致，下同）内源性过氧化物酶封闭剂，室温孵育 5min；TBS 清洗液冲洗 3 次，3min/次。

##### 4.4 加抗体





除去 TBS 清洗液，加入 80-100 $\mu$ L 一抗，室温孵育 60min；TBS 清洗液冲洗 3 次，3min/次。

#### 4.5 加一抗后放大剂

除去 TBS 清洗液，加入 80-100  $\mu$  L 一抗后放大剂，室温孵育 20min；TBS 清洗液冲洗 3 次，3min/次。

#### 4.6 加 HRP 酶标二抗聚合物

除去 TBS 清洗液，加入 80-100 $\mu$ L 酶标二抗聚合物，室温孵育 20min；TBS 清洗液冲洗 3 次，3min/次。

#### 4.7 显色

除去 TBS 清洗液，加入 80-100 $\mu$ L 新鲜配制的 DAB 显色液，室温孵育 5min。

#### 4.8 复染

自来水冲洗，加 80-100 $\mu$ L 苏木素，室温孵育 1-3min；自来水冲洗返蓝。

#### 4.9 脱水、透明、封片

置于 85%乙醇中，浸泡 2min；

置于 95%乙醇中，浸泡 2min；

置于无水乙醇中，浸泡 2 次,2min/次；

二甲苯透明，浸泡 2 次,2min/次；

中性树胶和盖玻片封片。

#### 4.9 光学显微镜阅片

##### 【检验方法的局限性】

1. 免疫组织化学试验中，试剂选取、样本固定、处理，切片准备及染色结果解释等都必须经过严格的专业培训；专业的操作人员、经过认证的实验室将有助于实验检测过程的标准化，从而减少由于外界因素造成的染色偏差。
2. 染色前组织的处理直接影响染色效果。不恰当的固定、冰冻、融化、清洗、烘干、切片或被其他组织或液体污染都会造成假阳性、抗体定位不

准确或假阴性结果。固定和包埋方法的不同或组织内部的不规则也可能造成异常的染色结果。

3. 过度或不足的复染都会影响结果的正确解释。
4. 该试剂盒仅对 10%中性缓冲福尔马林固定石蜡包埋的组织进行了验证，不得用于其它样本类型或流式细胞检测等其它用途。

##### 【注意事项】

1. 该试剂盒仅供科研使用。
2. 实验开始前，应仔细阅读说明书。
3. 该试剂必须是经过严格培训的专业人员在有效期内使用，如发现漏液、污染或变质，请勿使用。
4. 该试剂使用应采取适当的防护措施，避免试剂同皮肤和眼睛接触，禁止口吸试剂，若皮肤、粘膜等身体部位接触该试剂，及时使用大量水冲洗。
5. 抗原修复、孵育时间、温度条件或应用其他方法均可能导致错误结果。
6. 样本室温保存时，应在封存 7 天内染色。否则会因为时间长久，导致组织中抗原退变产生假阴性结果。
7. DAB 有潜在致突变作用，在使用过程中应特别注意安全防护措施外，对其使用后的废液存放和去毒性处理也应符合相关法律法规要求。
8. 该试剂是否应用于非福尔马林固定组织还未得到证实。

##### 【基本信息】

生产企业：赛诺特生物技术（苏州）有限公司

联系地址：苏州市高新区富春江路 188 号 7 号楼 701 室

联系方式：0512-66616037

##### 【生产日期及使用期限】

详见标签

