

产品名称：免疫组化双染试剂盒（DAB/AEC）（小鼠/兔）

产品货号：PA10001

产品概述

EnkiLife 研发的双重免疫组化检测系统，能够在同一组织切片上同时检测两种不同抗原。试剂盒包含 HRP 酶标记的抗小鼠和抗兔二抗 IgG，该系统通过优化的二抗与 HRP 酶结合，显著提高了检测的特异性和灵敏度，配合 DAB（棕褐色）和 AEC（红色）两种显色底物，实现双重抗原的定位和可视化。

产品信息

产品形态	液体
产品规格	6 mL、30 mL、100 mL
储存条件	2-8℃
运输条件	低温
有效期	12 个月

组 分	规 格 (6mL)	规 格 (30mL)	规 格 (100mL)
Reagent 1: 3% H_2O_2	6mL	30mL	100mL
Reagent 2: 正常山羊血清封闭液	12mL	60mL	200mL
Reagent 3: HRP-山羊抗小鼠/兔 IgG	12mL	60mL	200mL
Reagent 4: 抗体洗脱剂	6mL	30mL	100mL
Reagent 5: DAB 浓缩液(50X)	120 μL	600 μL	2mL
Reagent 6: DAB 稀释液	6mL	30mL	100mL
Reagent 7: AEC 显色试剂 A	300 μL	1.5mL	5mL
Reagent 8: AEC 显色试剂 B	300 μL	1.5mL	5mL
Reagent 9: AEC 显色试剂 C	6mL	30mL	100mL

实验步骤

1. 脱蜡与水化：对于石蜡切片，依次使用二甲苯和梯度酒精脱蜡、水合。
2. 抗原修复：根据抗体特性选择合适的抗原修复方法，如热修复（微波、水浴），高压修复或酶修复。
3. 内源性酶灭活：切片上滴加 3% H_2O_2 （Reagent 1），室温孵育 15-20 分钟，以灭活内源性过氧化物酶。
4. 洗涤：用 PBST 洗涤切片，每次 3-5 分钟，重复 3 次。
5. 封闭：使用正常山羊血清封闭液（Reagent 2）覆盖切片，37℃ 孵育 30 分钟。
6. 一抗孵育：选择合适的一抗稀释比例稀释后，将工作液均匀覆盖在切片上，4℃过夜或 37℃ 孵育 1 小时。
7. 洗涤：用 PBST 洗涤切片，每次 3-5 分钟，重复 3 次。
8. 二抗孵育：切片上滴加 HRP-山羊抗小鼠/兔 IgG（Reagent 3）【该二抗可识别兔源及小鼠源一抗】，室温孵育 30-60 分钟。

产品名称：免疫组化双染试剂盒 (DAB/AEC) (小鼠/兔)

产品货号：PA10001

-
9. 洗涤：用 PBST 洗涤切片，每次 3-5 分钟，重复 3 次。
 10. 显色反应：切片上滴加 DAB 显色底物（按 1:50 稀释，如：1 μ L DAB 浓缩液（Reagent 5 使用前请先离心），加入 49 μ L DAB 稀释液（Reagent 6）混匀后使用，本试剂需现配现用，配置好后，尽量在半小时内使用完毕），显色时在显微镜下观察颜色变化，适当时终止。
 11. 洗涤：用 PBST 洗涤切片，每次 3-5 分钟，重复 3 次。
 12. 抗体洗脱：在切片上滴加抗体洗脱剂（Reagent 4），室温孵育 15-25min（37 $^{\circ}$ C 孵育更佳）。再用 PBST 洗涤切片，每次 3-5 分钟，重复 3 次。
 13. 封闭：使用正常山羊血清封闭液（Reagent 2）覆盖切片，37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
 14. 一抗孵育：选择合适的一抗稀释比例稀释后，将工作液均匀覆盖在切片上，4 $^{\circ}$ C 过夜或 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。
 15. 洗涤：用 PBST 洗涤切片，每次 3-5 分钟，重复 3 次。
 16. 二抗孵育：切片上滴加 HRP-山羊抗小鼠/兔 IgG（Reagent 3）【该二抗可识别兔源及小鼠源一抗】，室温孵育 30-60 分钟。
 17. 洗涤：用 PBST 洗涤切片，每次 3-5 分钟，重复 3 次。
 18. 显色反应：切片上滴加 AEC 显色底物（按 1:20 稀释，如：180 μ L AEC 显色试剂 C（Reagent 9）中加入 10 μ L AEC 显色试剂 A（Reagent 7 使用前请先离心），再加入 10 μ L AEC 显色试剂 B（Reagent 8 使用前请先离心），混匀后使用，本试剂需现配现用，配置好后，尽量在半小时内使用完毕），显色时在显微镜下观察颜色变化，适当时终止。
 19. 复染：使用苏木素（推荐：Mayer 苏木素）复染细胞核。
 20. 封片与保存：使用水溶性封片剂（如甘油明胶）封片。
 21. 镜检：在光学显微镜下观察实验结果。

注意事项

1. 试剂需在 2-8 $^{\circ}$ C 保存，避免冷冻。
2. 根据实验需求优化一抗浓度及一抗、二抗孵育时间。
3. AEC 生成的产物溶于有机溶剂，不能使用含酒精的苏木素复染，也不能使用含有酒精的分化液进行分化；显色后不适合用梯度酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片，须用水溶性封片剂封片。
4. AEC 对光敏感，显色步骤需避光，封片后避光保存。
5. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
6. 该产品仅供科研使用，不得用于诊断或临床实验。