

**产品名称:** 双重免疫组化染色试剂盒 (DAB/AEC, Polymer-HRP 抗小鼠/兔二抗)  
**产品货号:** PA10002

## 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。Polymer-HRP 标记的 IHC 检测系统通过先进的聚合物技术, 将辣根过氧化物酶 (HRP) 与特异性抗体结合, 形成稳定的聚合物复合物。这种独特的标记方式极大地提高了信号强度和检测灵敏度, 同时减少了背景染色, 操作简便、稳定性强。试剂盒包含 Polymer-HRP 酶标记的抗小鼠和抗兔二抗 IgG, 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°C             |
| 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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 6mL      | 30mL      | 100mL      |
| Reagent 2: 山羊血清封闭液                          | 12mL     | 60mL      | 200mL      |
| Reagent 3: Polymer-HRP 标记山羊抗小鼠 IgG          | 6mL      | 30mL      | 100mL      |
| Reagent 4: Polymer-HRP 标记山羊抗兔 IgG           | 6mL      | 30mL      | 100mL      |
| Reagent 5: DAB 浓缩液(50X)                     | 120μL    | 600μL     | 2mL        |
| Reagent 6: DAB 稀释液                          | 6mL      | 30mL      | 100mL      |
| Reagent 7: AEC 显色试剂 A                       | 300μL    | 1.5mL     | 5mL        |
| Reagent 8: AEC 显色试剂 B                       | 300μL    | 1.5mL     | 5mL        |
| Reagent 9: AEC 显色试剂 C                       | 6mL      | 30mL      | 100mL      |

## 实验步骤

- 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。
- 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。
- 内源性酶灭活: 切片上滴加 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Reagent 1), 室温孵育 15-20 分钟, 以灭活内源性过氧化物酶。
- 洗涤: 用 PBST 洗涤切片, 每次 3-5 分钟, 重复 3 次。
- 封闭: 使用山羊血清封闭液 (Reagent 2) 覆盖切片, 37°C 孵育 30 分钟。
- 一抗孵育: 选择合适的稀释比例稀释一抗后, 将工作液均匀覆盖在切片上, 4°C 过夜或 37°C 孵育 1 小时。

**产品名称: 双重免疫组化染色试剂盒 (DAB/AEC, Polymer-HRP 抗小鼠/兔二抗)**

**产品货号: PA10002**

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 Polymer-HRP 标记山羊抗小鼠 IgG (Reagent 3) 【根据一抗种属选择相应二抗】, 室温孵育 30-60 分钟。
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 $\mu$ L DAB 浓缩液 (Reagent 5 使用前请先离心), 加入 49 $\mu$ 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. 封闭: 使用山羊血清封闭液 (Reagent 2) 覆盖切片, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
13. 一抗孵育: 选择合适的稀释比例稀释一抗后, 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。
14. 洗涤: 用 PBST 洗涤切片, 每次 3-5 分钟, 重复 3 次。
15. 二抗孵育: 切片上滴加 Polymer-HRP 标记山羊抗兔 IgG (Reagent 4) 【根据一抗种属选择相应二抗】, 室温孵育 30-60 分钟。
16. 洗涤: 用 PBST 洗涤切片, 每次 3-5 分钟, 重复 3 次。
17. 显色反应: 切片上滴加 AEC 显色底物 (按 1:20 稀释, 如: 10 $\mu$ L AEC 显色试剂 A (Reagent 7 使用前请先离心), 加入 10 $\mu$ L AEC 显色试剂 B (Reagent 8 使用前请先离心), 再加入 180 $\mu$ L AEC 显色试剂 C (Reagent 9) 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。
18. 复染: 使用苏木素 (推荐: Mayer 苏木素) 复染细胞核。
19. 封片与保存: 使用水溶性封片剂 (如甘油明胶) 封片。
20. 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。