

抗体洗脱液

产品应用：抗体洗脱液适用于石蜡切片，冰冻切片，细胞爬片等样品中，TSA 染色过程中的抗体洗脱。

产品货号：RC-010；

规格：30mL；

保存：RT，有效期 12 个月；

使用方法：

1、样本准备：

- 1) 石蜡切片：依次将切片放入二甲苯I15min-二甲苯II15min-无水乙醇I5min-无水乙醇II。取出放在通风厨内，酒精晾干后放入自来水中稍洗，蒸馏水洗。
- 2) 冰冻切片：冰冻切片固定 10-30min，PBS 洗 5min 重复 3 次，滴加破膜液通透 20min，PBS 洗 5min 重复 3 次。
- 3) 细胞爬片：细胞爬片固定 10-30min，PBS 洗 5min 重复 3 次，滴加破膜液通透 20min，PBS 洗 5min 重复 3 次。

2、抗原修复：组织切片置于盛满 PH 9.0 EDTA 碱性抗原修复液或者 PH6.0 柠檬酸修复缓冲液的修复盒中于微波炉内进行抗原修复（也可以用高压 1-2min 100 度水煮 15min 95 度水浴 20min 等其他热修复方法）。自然冷却后将玻片置于 PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。（修复液和修复条件根据组织类型以及抗原类型来确定，冰冻切片和细胞爬片省略此步骤）。

3、阻断内源性过氧化物酶：滴加 3%过氧化氢溶液，室温避光孵育 25 min，PBS 洗涤 3 次，每次 5min。

4、BSA 封闭：用组化笔在组织周围画圈（防止抗体流走），在圈内滴加用 3%BSA-PBS（或者其他封闭液）均匀覆盖组织，室温封闭 30min。

5、加一抗：弃封闭液，滴加用抗体稀释液稀释好的的一抗 X，于避光湿盒内 4℃ 孵育过夜或者 37 度 1-2h（湿盒内加少量水防止抗体蒸发）。

6、加 hrp 二抗： PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。滴加与一抗相应种属的 hrp 二抗覆盖组织，避光室温孵育 50min，PBS 洗三次。

7、荧光染料反应：TYRXXX 荧光染料反应 2-15min，PBS 洗三次。

8、抗体洗脱：滴加适量 37 度预热至完全溶解的抗体洗脱液覆盖样本，37 度放置 5-20 分钟，弃去洗脱液，再次滴加适量抗体洗脱液覆盖样本 37 度放置 5-20 分钟，弃洗脱液，PBS 洗三次，每次 5 分钟

9、重复 3-7 步骤（换用另外一种 TYRXXX 荧光染料）

10、DAPI 复染细胞核： PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。滴加 DAPI 染液，避光室温孵育 10min。

11、封片： PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片。

12、镜检拍照： 玻片于荧光显微镜/共聚焦/多通道荧光扫描仪/多光谱成像系统下观察并采集图像。

注意事项

1. 抗体洗脱效果取决于切片厚度，洗脱温度和时间，一抗种类，具体洗脱时间需要根据情况调整。
2. 如果有些抗体的洗脱有问题，可降低一抗稀释比例，或者将这些抗体放在 TSA 最后一轮做。
3. 抗体洗脱液容易流出，如果发现流出需及时补充。
4. 每次使用前确保试剂完全溶解无沉淀，如发现有沉淀析出，需放入 37 度充分溶解后方可使用
5. 抗体洗脱液，优先应用于细胞爬片/冰冻切片/易脱片的骨组织等，石蜡切片优先应用 EDTA 或者柠檬酸 6.0 修复液洗脱抗体。
6. 抗体洗脱液偏酸性，过度洗脱（时间过长或者温度过高），会导致抗原性降低以及 dapi 核弱染。
7. 没有固定的切片不适合抗体洗脱液操作。