

兔二步法免疫组化试剂盒

一、试剂盒成份：

封闭液	3ml
增强剂	3ml
即用型羊抗兔酶标抗体	3ml

二、染色步骤：

- 1、石蜡切片脱蜡和水化后，用 PBS(0.01M, pH7.4)冲洗三次，每次 3 分钟(3x3min)。
- 2、根据每种抗体的要求，对组织抗原进行相应的修复。
- 3、每张切片加 1 滴或 50ul 的 3% H_2O_2 ，室温孵育 10 分钟，以阻断内源性过氧化物酶的活性。PBS 冲洗 3x3min。
- 4、除去 PBS 液，每张切片加 1 滴或 50ul 封闭液，室温孵育 10-30 分钟。
- 5、除去封闭液，每张切片加 1 滴或 50ul 第一抗体(用 5%牛血清白蛋白或 PBS 稀释)，室温孵育 60 分钟或 4℃ 过夜，建议参见每种抗体的说明书。
- 6、PBS 冲洗 3x5min。除去 PBS 液，每张切片加 1 滴或 50ul 聚合物增强剂，室温孵育 20 分钟，PBS 冲洗 3x5min。
- 7、除去 PBS 液，每张切片加 1 滴或 50ul 酶标抗体，室温孵育 20 分钟，PBS 冲洗 3x5min。
- 8、除去 PBS 液，每张切片加 1 滴或 50ul 新鲜配制的 DAB 或 AEC 溶液，显微镜观察 3~5 分钟(DAB)或 10 分钟(AEC)，根据显色情况适时终止显色反应。
- 9、自来水冲洗，苏木素复染，若有必要，可用 0.1%HCl 分化，自来水冲洗，PBS 返蓝。
- 10、如果用 DAB 显色，则切片经梯度酒精脱水干燥，(二甲苯透明)，中性树胶封片，如果用 AEC 显色，则切片不能酒精脱水，直接用水性封片剂。

