

抗原修复液 EDTA(20X) pH9.0 说明书

【产品货号】

YS0004

【产品名称】

- 1、通用名称：抗原修复液 EDTA(20X) pH9.0
- 2、英文名称：Antigen Retrieval buffer(20X) EDTA pH9.0

【包装规格】

100mL 250mL

【预期用途】

细胞或组织用多聚甲醛、甲醛或其它醛类试剂固定后，会导致蛋白之间的交联(cross-link)，从而遮蔽样品的抗原位点，导致免疫染色时染色信号减弱，甚至出现一些假阳性染色结果。本抗原修复液可以有效去除醛类固定试剂导致的蛋白之间的交联，充分暴露石蜡切片等样品中的抗原表位，从而更好地改善免疫染色效果。通常石蜡切片均需进行抗原修复处理，而冰冻切片不进行抗原修复处理。抗原修复会大大改善石蜡切片的免疫染色效果，但对于冰冻切片的染色效果很多文献资料表明也有显著改善。特别是当冰冻切片免疫染色效果欠佳时，可以考虑尝试进行抗原修复。从原理上来看，无论冰冻切片还是细胞爬片等，只要是用多聚甲醛、甲醛或其它醛类试剂固定的样品，进行抗原修复都会有效去除蛋白之间的交联，充分暴露抗原表位，从而大大改善免疫染色效果。本产品适用于石蜡切片，也可以用于冰冻切片等其它样品。

【储存条件及有效期】

- 1、储存要求：2℃-8℃密封保存。
- 2、有效期：二年。

【使用方法】

1. 将切片置于以下染色缸中梯度脱蜡反应：

二甲苯	10 分钟×2 次
二甲苯	5 分钟
无水乙醇	5 分钟×2 次
95%乙醇	5 分钟
85%乙醇	5 分钟
蒸馏水清洗	3 分钟×3 次

2. 切片脱蜡后采用本修复液进行抗原修复。本产品可使用微波法或高温高压法修复，通常使用微波法。可根据需求量将三级水或一级水与 20X 浓缩液按体积比 19:1 比例进行混合。

2.1.对于微波法，将切片浸泡在抗原修复液(1X)中，95-100℃ 加热约 20 分钟(加热时间可以控制在 10-30 分钟内，最佳的加热时间需根据不同的样品和目的蛋白自行摸索)。如果使用微波炉加热，需注意避免暴沸和过多的水分蒸发。随后大约在 20-30 分钟内冷却至室温。用 PBST 清洗 3 分钟×3 次。随后即可进行封闭等后续的免疫染色步骤。

2.2 对于高温高压法，

- 1) 将脱蜡后的组织切片用自来水洗净，再用蒸馏水浸洗五遍，

把洗净的组织切片静置在蒸馏水中待用。

- 2) 把高压锅放在电磁炉上，向高压锅内倒入抗原修复液，插上电源后，不压阀，高火加热至煮沸后按暂停键，放入备用的洗净的组织切片（放入前将玻片架上多余水分甩掉），确保切片上的组织完全浸入抗原修复液中，再盖上盖，压上阀，继续加热待高压锅喷气后调至低火，持续喷气 3-4min，（最佳的加热时间需根据不同的样品和目的蛋白自行摸索）。关火，拔掉插头。

- 3) 待气阀自然落下，打开高压锅，让锅内修复溶液自然冷却。

- 4) 修复液的温度降至适宜温度后，取出组织切片放入装有蒸馏水的烧杯中，再用蒸馏水浸洗 5-6 遍。

3. 根据组织大小直接滴加试剂灭活封闭二合一溶液到组织上，通常为 100uL，直至完全覆盖组织。室温 15 分钟，PBST 清洗 3 分钟×3 次。**推荐 Immunoway 货号 RS0053**

- 4 根据组织大小滴加一抗到组织上，通常为 100uL,直至完全覆盖组织。湿盒孵育 1 小时。PBST 清洗 3 分钟×3 次。（一抗的最佳反应时间因制造商不同可能略有差异）

- 5 可选步骤：根据组织大小滴加增强剂到组织上，通常为 100uL,直至完全覆盖组织。室温 20 分钟，PBST 清洗 3 分钟×3 次。本步骤通常在自动组化仪中加入，手工法中增强剂可以根据显色效果选择是否加入，增强剂可增强小鼠来源一抗信号 1-10 倍。**推荐 Immunoway 货号 RS0052**

- 6 根据组织大小滴加 HRP 山羊抗兔/小鼠 polymer 聚合物到组织上，通常为 100uL。室温 30 分钟（**推荐 Immunoway 货号 RS0011**），PBST 清洗 3 分钟×3 次。

- 7 DAB 显色：DAB 显色液需用现配。

以 Immunoway 货号 RS0051 显色液为例：在 DAB 配液瓶或其他容器中依次加入 1mL DAB 底物缓冲液，50ul 浓缩 DAB 溶液后混匀。根据组织大小滴加 1-2 滴在组织上，通常为 100uL，直至完全覆盖组织，室温 3-10 分钟。

- 8 自来水冲洗终止显色，加入苏木素溶液中复染；分化、冲洗反蓝。

- 9 酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片后阅片。

【注意事项】

- 1、本品仅用于科研，不做其他用途。
- 2、需专业人员使用。
- 3、应用适当防护措施，避免试剂同皮肤和眼睛接触。
- 4、废液处理：进行无害化处理，并符合相关的环保要求。