SABC(兔 IgG)-FITC 说明书

货号：AC15838

产品内容：

封闭液（5% BSA）	10ml
Bio-羊抗兔 IgG 浓缩液	100ul
SABC-FITC 浓缩液	100ul
稀释液	30ml
抗荧光衰减封片剂	10ml

保存：

如果长时间不使用，请将所有试剂存放于-20℃，如经常使用，可将封闭液，稀释液和抗荧光衰减封片剂存放于 2-8℃以方便使用。

产品简介：

本试剂盒适合于一抗为兔 IgG 来源的免疫组化实验.，FITC 荧光检测。

SABC 是专为免疫组化和其他免疫检测而设计的，用以显示组织和细胞中抗原分布。链霉亲和素(StreptAvidin)是一种从链霉菌中提取的蛋白质，同亲和素一样，对生物素有极高的亲和力，亲和素是一个碱性蛋白质（IP=10），经改造后可以转变成中性蛋白质。链霉亲和素等电点接近中性，对组织和细胞的非特异吸附很低，基于链霉亲和素的免疫组化方法背景很低。SABC 即 StreptAvidin—Biotin Complex，SABC 大约可形成一百个左右的 FITC 和五十个左右的链霉亲和素所构成的复合物。大量的 FITC 将保证 SABC 具有很高的敏感性。

操作步骤：（微量试剂请离心后使用）

以石蜡切片热修复为例

1. 切片常规脱蜡至水。
2. 可选步聚：

a、热修复抗原，将切片浸入 0.01M 柠檬酸钠缓冲液（PH6.0）,电炉或微波炉加热至沸腾后断电，间隔 5-10min 后，反复 1-2 次。冷却后 PBS（pH7.2-7.4）洗涤 1-2 次。

b、酶消化，滴加消化液，37℃10min，PBS（pH7.2-7.4）洗涤 2-3 次。

c、跳过此步，直接进入下一步。

3. 滴加 5% BSA 封闭液,室温 20 分钟。甩去多余液体，免洗。
4. 用稀释液将一抗按一定比例稀释（稀释后的一抗 4℃可保存一周），也可另行购买抗体稀释液。滴加稀释的一抗，37℃ 孵育 1h 左右或 20℃ 2h 左右，也可 4℃过夜。PBS（pH7.2-7.4）洗涤 3 次，每次 2min（一抗的稀释度、孵育时间和温度与染色强度、背景有直接关系。一般来说，阳性染色强度不够时，可提高一抗浓度和延长孵育时间；背景过高时，可降低一抗浓度和缩短孵育时间）。
5. 根据使用量,用稀释液将 Bio-羊抗兔 IgG 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1ml 稀释液加入 10ul Bio-羊抗兔 IgG 浓缩液,混匀即成工作液，此工作液 4℃可保存一周)。滴加 Bio-羊抗兔 IgG 工作液，20-37℃孵育 30 分钟。PBS（pH7.2-7.4）洗涤 3 次，每次 2min。

6. 根据使用量,用稀释液将 SABC-FITC 浓缩液按 1:100 稀释成工作液(1ml 稀释液加入 10ul SABC-FITC 浓缩液，混匀即成 SABC-FITC 工作液，此工作液 4℃可保存一周)。滴加 SABC-FITC 工作液，20-37℃孵育 30min(避光)。PBS（pH7.2-7.4）洗涤 4 次，每次 5min。
7. 滴加抗荧光衰减封片剂封片。荧光显微镜观察。

对于细胞爬片，固定后，PBS 漂洗两次，再用 0.5% Trxiton X-100 室温孵育 20min， PBS 漂洗两次，接上述第 3 步。

对于冰冻切片，固定后，PBS 漂洗两次，再接上述第 2 步。

注意事项：

如果背景过高，在 SABC 反应之后，用加有 0.01%—0.02% TWEEN-20 的 PBST（pH7.2-7.4）洗涤切片 4 次，PBS 洗 2 次，然后封片观察。