

荧光三标信号放大试剂盒

(冰冻切片、细胞爬片适用)

货号: HKI0000-3A

【产品信息】

产品名称	产品货号	20T	50T	100T	有效期
Flare520	HKI0014	1ml	2.5ml	5ml	12 个月
Flare570	HKI0015				
Flare690	HKI0017				
POLY-HRP羊抗兔二抗(可选)	HKI0026				
DAPI染色液(即用型)	HKI0005				
抗荧光淬灭封片剂	HKI0007				
TSA荧光信号增强剂	HKI0046	10ul	25ul	50ul	
抗体洗脱液	HKI0045	3ml	7.5ml	15ml	
内源性过氧化物酶阻断剂	HKI0047	6ml	15mL	30mL	

(注: 荧光染料可查询荧光染料资料选择, 本试剂盒荧光染料为默认选择, 若选择Flare480或Flare780需要补差价)

【产品简介】

酪酰胺信号放大(TSA)系统可用于检测荧光免疫细胞化学(ICC)、免疫组织化学(IHC)中的低丰度靶点, 可将信号灵敏度提高100倍。TSA 荧光试剂盒使用辣根过氧化物酶(HRP)直接催化固定化酶周围的荧光基团共价沉积, 形成永久性共价键结合。在运用HRP二抗及一抗在室温下由抗体洗脱液脱离掉抗原失活的原理, 重复此过程, 即可实现同种属荧光双标及荧光三标以及多标(注: 此过程仅适用于冰冻切片、细胞爬片的荧光多标)。

此试剂盒中的荧光探针可单独或配合使用。可以实现单标、双标、三标或荧光放大等功能不受一抗种属的影响, 极大丰富了荧光多色的内容。

【储存与运输】

冰袋(wet ice)运输; -20℃长期保存, 短期于4℃保存, 有效期 12 个月。

【使用方法】

细胞爬片

1. 固定通透

在培养板中将已爬好细胞的玻片用PBS浸洗3次, 每次3min, 用4%多聚甲醛固定15min, PBS浸洗3次, 每次3min。细胞通透剂(货号: HKI0048)室温通透20min(细胞膜上表达的抗原可省略)。

2. 封闭处理

PBS浸洗3次，每次3min，吸水纸吸干PBS，滴入**封闭液（货号：HKI0009R/B/S）**完全覆盖细胞，室温封闭30min。

3. 一抗孵育

弃掉封闭液，滴加用**通用抗体稀释液（货号：HKW2083）**适当比例稀释的一抗并放入湿盒，4℃孵育过夜（或37℃湿盒孵育2h）。

4. 二抗孵育

PBST浸洗3次，每次3min，吸干多余液体滴加稀释好的与一抗相应种属的HRP标记二抗，湿盒中37℃孵育1h，PBST浸洗3次，每次3min。

5. 加TSA 信号放大试剂

根据需要标记的荧光颜色加对应的TSA 信号放大试剂，孵育3-10min（具体根据预实验条件确定）。如遇标记效果差的可添加荧光增强剂进一步加强，增强剂:荧光试剂1:500正常孵育，浓度也可摸索使用。

6. 荧光多色实现

抗体洗脱液37℃预热至完全溶解，滴加足量抗体洗脱液完全覆盖细胞，37℃放置8分钟，弃去洗脱液，再次滴加足量抗体洗脱液完全覆盖细胞，37℃放置8分钟，弃洗脱液，PBS浸洗3次，每次5min，洗脱掉一抗及相应二抗，再重复步骤3-5，实现荧光多色。

7. DAPI 复染细胞核

8. 抗荧光淬灭封片剂封片

9. 相应荧光通道拍照或扫描

冰冻切片

1. 复温固定

冰冻切片室温放置30min后，入纯甲醇固定10min。（若采用甲醛固定液固定组织，需要进行抗原修复）

2. 阻断内源性过氧化物酶和血清封闭

PBS浸洗切片3次，每次5min，用**过氧化物酶阻断剂（货号：HKI0047）**孵育25min，阻断内源性过氧化物酶，滴入**封闭液（货号：HKI0009R/B/S）**37℃孵育20min。

3. 一抗孵育

弃掉封闭液，滴加适当比例稀释的一抗并放入湿盒，4℃孵育过夜。

4. 二抗孵育

PBST浸洗3次，每次3min，吸干多余液体滴加稀释好的与一抗相应种属的HRP标记二抗，湿盒中37℃孵育1h，PBST浸洗3次，每次3min。

5. 加TSA 信号放大试剂

根据需要标记的荧光颜色加对应的TSA 放大试剂，孵育3-10min（具体根据预实验条件确定）。如遇标记效果差的可添加荧光增强剂进一步加强，增强剂:荧光试剂=1:500正常孵育，浓度也可摸索使用。

6. 荧光多色实现

抗体洗脱液37℃预热至完全溶解，滴加足量抗体洗脱液完全覆盖组织，37℃放置8分钟，弃去洗脱液，再次滴加足量抗体洗脱液完全覆盖组织，37℃放置8分钟，弃洗脱液，PBS浸洗3次，每次5min，洗脱掉一抗及相应二抗，再重复步骤3-5，实现荧光多色。

7. DAPI 复染细胞核
8. 抗荧光淬灭封片剂封片
9. 相应荧光通道拍照或扫描

【注意事项】

1. 本产品仅作科研用途。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. POLY-HRP羊抗兔二抗属于附赠试剂，不足100T剂量，可根据需要回购。
4. 样本来源为兔（或小鼠），若出现较高非特异性荧光着色，一抗为兔抗（或鼠抗）时，可采用POLY-HRP羊抗兔二抗（货号：HKI0026）或POLY-HRP羊抗鼠二抗（货号：HKI0027）。



扫描二维码查看荧光染料资料