

# 荧光双标信号放大试剂盒

(冰冻切片、细胞爬片适用)

货号: HKI0000-2A

## 【产品信息】

| 产品名称           | 产品货号    | 规格       | 有效期   |
|----------------|---------|----------|-------|
| Flare520       | HKI0014 | 5mL/100T | 12 个月 |
| Flare570       | HKI0015 |          |       |
| HRP超敏山羊抗兔鼠通用二抗 | HKI0029 |          |       |
| 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 | 50u1     |       |
| 抗体洗脱液          | HKI0045 | 10ml     |       |

## 【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：HKW2085/86/87/99）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）按一定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可具体根据预实验条件。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

冰冻切片室温防置30min后，入纯甲醇固定10min。（亦可采用其他固定方式）

### 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：HKW2085/86/87/99）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可具体根据预实验条件。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

**【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. HRP超敏山羊抗兔鼠通用二抗属于附赠试剂，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HRP标记的山羊抗兔IgG(货号：HKS23303)或HRP标记的山羊抗小鼠IgG（HKS23301）。



扫描二维码查看荧光染料资料