

# 荧光四标信号放大试剂盒

(冰冻切片、细胞爬片适用)

货号: HKI0000-4A

## 【产品信息】

产品名称	产品货号	50T	100T	有效期
Flare520	HKI0014	2.5ml	5ml	12 个月
Flare570	HKI0015			
Flare690	HKI0017			
Flare620	HKI0016			
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	25ul	50ul	
抗体洗脱液	HKI0045	10ml	20ml	

## 【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、四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）**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3敏，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3敏，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