



鼠兔双标三色荧光检测试剂盒

产品包装:

产品编号	产品名称	包装	保存温度
DW2220-A	过氧化物酶封闭缓冲液	1ml	4 度
DW2220-B	HRP 多聚合抗兔/鼠 IgG 二抗	2ml	4 度
DW2220-C488	488 标记 Tyramide	1ml	4 度
DW2220-C594	594 标记 Tyramide	1ml	4 度
DW2220-D	温和型抗体剥离液	2ml	4 度
DW2220-E	DAPI/封片二合一溶液	1ml	-20 度

【预期用途】

免疫荧光染色，常规兔来源或鼠来源的浓缩型或即用型一抗使用。

【作用原理】

鼠兔多色免疫荧光检测试剂盒，摆脱传统免疫荧光实验条件对抗体种属来源的限制和束缚。三种荧光染料免疫组化实验用到的试剂一站式配齐，具有高灵敏度的 HRP 多聚合物二抗(Anti-Rabbit/Mouse)和 荧光显色液配套使用，可以一次显色两种抗体(抗体来源于鼠兔均可)，使得该试剂盒具有操作方便、快速、灵敏度高等特点。

【自备材料】

- 1、合适的加热装置，染缸，移液器，盖玻片等常用耗材
- 2、PBST、纯水等常用试剂

【样本要求】

细胞爬片

【成像推荐荧光通道】

编号	名称	激发光	发射光	建议滤光片	推荐颜色设置
试剂 C-488	488 标记 Tyramide	496	519	FITC, Opal520	
试剂 C-594	594 标记 Tyramide	590	617	SpRed,TxRed,Opal620	

【细胞爬片使用步骤】

- 1、(细胞膜上表达的抗原省略此步骤) 破膜: 用 0.1-0.3%Triton X-100(通常不建议超过 0.3%, 试剂盒未提供)室温通透 20 min。
- 2、1xPBS 洗涤三次, 每次 2 分钟。
- 3、将玻片沥干几秒钟, 滴加试剂 A (过氧化物酶封闭缓冲液) 50-100ul (可以覆盖组织即可), 室温孵育 15 min, PBST 冲洗 2 min × 3 次。
- 4、将玻片沥干几秒钟, 滴加相应的一抗到爬片上, 直至完全覆盖。室温或 37°C 孵育 1~2 小时, 或 4°C 湿盒中过夜后 37°C 复温 30 min, PBST 冲洗 2 min × 3 次。
- 5、将玻片沥干几秒钟, 滴加试剂 B (HRP 多聚合抗兔/鼠二抗) 工作液 50-100ul (可以覆盖组织即可), 室温 孵育 30 min, PBST 冲洗 2 min × 3 次。
- 6、加入荧光染料试剂 C-594 工作液 50-100ul (可以覆盖组织即可), 10 分钟后, PBST 冲洗 2 min × 3



多沃生物

Dowobio Biotechnology Co., Ltd



次,此步骤开始需要避光。

7、加入试剂 D (抗体剥离液需预热): 滴加适量 37°C预热的抗体剥离液覆盖爬片, 37°C放置 5-20min, 甩干后无需洗涤, 再次滴加适量抗体剥离液覆盖组织 37°C放置 5-20min, 弃剥离液 (通常两次剥离时间合计 20 分钟足够), PBST 洗三次, 每次 5min。

8、加入荧光染料试剂 C-488 工作液 50-100ul (可以覆盖组织即可), 10 分钟后, PBST 冲洗 2 min × 3 次。

9、加入试剂 D(抗体剥离液需预热): 滴加适量 37°C预热的抗体剥离液覆盖爬片, 37°C放置 5-20min, 甩干后无需洗涤, 再次滴加适量抗体剥离液覆盖组织 37°C放置 5-20min, 弃剥离液 (通常两次剥离时间合计 20 分钟足够), PBST 洗三次, 每次 5min。

10、滴一滴试剂 E (约 30-50ul) 在组织切片上, 盖上盖玻片, 让切片接触封片液, 尽量避免气泡,扫描或拍照

备注: 以上荧光顺序适用于各指标表达含量相差不大的情况。可以根据对应指标的表达情况按预实验结果调整荧光染料顺序。例如可优先标记高表达指标, 后标记低表达指标。部分组织经过多次加热可能会影响一抗与蛋白的结合, 建议通过单色的多轮加热步骤调整染色顺序。

【产品性能指标】

- 1、符合性: 阳性对照 (实验自备) 结果为阳性, 阳性着色的定位应准确, 无背景着色; 空白对照和阴性对照染色结果为阴性。
- 2、批内重复性: 同一组织来源的组织切片染色的强度和定位无明显差异。
- 3、批间重复性: 不同批号试剂对同一组织来源的组织片染色的强度和定位无明显差异。

【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。

本产品文章中的写法:

英文: Dowobio (Shanghai, China)

中文: 上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海