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】

<table>
<tr><th>产品名称</th><th>产品货号</th><th>20T</th><th>50T</th><th>100T</th><th>有效期</th></tr>
<tr><td>Flare520</td><td>HKI0014</td><td rowspan="6">1ml</td><td rowspan="6">2.5ml</td><td rowspan="6">5ml</td><td rowspan="9">12 个月</td></tr>
<tr><td>Flare570</td><td>HKI0015</td></tr>
<tr><td>Flare690</td><td>HKI0017</td></tr>
<tr><td>POLY-HRP羊抗兔二抗（可选）</td><td>HKI0026</td></tr>
<tr><td>DAPI染色液（即用型）</td><td>HKI0005</td></tr>
<tr><td>抗荧光淬灭封片剂</td><td>HKI0007</td></tr>
<tr><td>TSA荧光信号增强剂</td><td>HKI0046</td><td>10ul</td><td>25ul</td><td>50ul</td></tr>
<tr><td>抗体洗脱液</td><td>HKI0045</td><td>3ml</td><td>7.5ml</td><td>15ml</td></tr>
<tr><td>内源性过氧化物酶阻断剂</td><td>HKI0047</td><td>6ml</td><td>15mL</td><td>30mL</td></tr>
</table>

（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。

杭州浩克生物技术有限公司
电话：0571-86715009　网址：https://www.haokebio.com/　地址：杭州市拱墅区凤起路 43 号

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