

兔 SP 试剂盒（兔链霉卵白素-生物素法检测系统）说明书

SP-9001

【产品名称】

通用名称：SP 试剂盒（兔链霉卵白素-生物素法检测系统）

【包装规格】

3mL, 6mL, 18mL, 55mL, 110mL。

【预期用途】

主要用于免疫组织化学染色的显色。

【检验原理】

生物素标记的山羊抗兔 IgG 聚合物与结合在组织片上的一抗反应形成免疫复合物，辣根酶标记链霉卵白素与生物素免疫复合物结合进一步形成聚合物，聚合物上的辣根酶（HRP）催化显色底物（DAB 或 AEC）形成不溶性色原，从而在显微镜下显示出组织片中的特定抗原的位点。

【主要组成成份】

包装规格：	3mL	6mL	18mL	55mL	110mL
试剂 1：内源性过氧化物酶阻断剂	3mL	6mL	18mL	55mL	110mL
试剂 2：封闭用正常山羊血清工作液	3mL	6mL	18mL	55mL	110mL
试剂 3：生物素标记山羊抗兔 IgG 聚合物	3mL	6mL	18mL	55mL	110mL
试剂 4：辣根酶标记链霉卵白素工作液	3mL	6mL	18mL	55mL	110mL

【储存条件及有效期】

2~8℃避光保存，不得冻存；产品有效期为12个月。

使用时即拿即放，使用后应立即放回冰箱，开封后试剂有效期6个月。

【适用仪器】

手工操作。

【样本要求】

1、标本类型：活检或手术切除标本。

2、标本固定：所有组织标本离体后（1小时内）尽快采用10%中性缓冲福尔马林固定，固定液与所浸泡组织的比例应足够。固定时间以8~72小时为宜。

3、组织切片：未染色的切片置于室温不宜超过6周，以防抗原丢失。切片厚度3~5μm黏附在防脱玻片上，56~60℃烤片2小时。

【检验方法】

1、检验所需仪器、设备：移液器、恒温箱、修复仪、免疫组化笔、计时器、孵育盒、染色架、盖玻片、光学显微镜、洗瓶。

2、试剂准备：DAB 显色液需要在使用前配制。

3、操作程序：

a) 脱蜡和水化

石蜡切片置于新鲜二甲苯中，浸泡 10 分钟×3 次；去除多余的液体后，置于无水乙醇中，浸泡 3 分钟×3 次；去除多余的液体后，置于 95%乙醇中，浸泡 3 分钟×2 次；去除多余的液体后，置于 75%乙醇中，浸泡 3 分钟×2 次；蒸馏水冲洗 1 分钟，置于 PBS 缓冲液中。

b) 抗原修复，参见一抗说明书。

c) 阻断内源性过氧化物酶

加入适量的内源性过氧化物酶阻断剂，室温孵育 10 分钟；PBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。

d) 滴加封闭用正常山羊血清工作液

滴加 100μL 或适量的封闭用正常山羊血清工作液，室温孵育 10~15 分钟，倾去血清，勿洗。

e) 滴加一抗

根据组织大小，滴加 100μL 或适量的一抗，37℃孵育 60 分钟；PBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。

f) 滴加生物素标记山羊抗兔 IgG 聚合物

滴加 100μL 或适量的生物素标记山羊抗兔 IgG 聚合物，室温孵育 10~15 分钟；PBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。

g) 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液

滴加 100μL 或适量的辣根酶标记链霉卵白素工作液，室温孵育 10~15 分钟；PBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。

h) 显色



加入适量新鲜配制的 DAB 或 AEC 显色液，室温孵育 5~8 分钟。

i) 复染

自来水冲洗，苏木素染色液孵育 20 秒；分化、冲洗返蓝。

j) 脱水、透明、封片

k) 阅片。

4、结果判定，染色结果须由有资质的病理医生对染色后的组织片在光学显微镜下观察并进行判读。

【检验结果的解释】

1、抗原修复、孵育时间、温度的修改或使用其他方法均有可能得出错误结果。

2、在每一次染色过程中，必须有空白对照和阴性对照实验同时进行。

3、如果阳性组织对照不能显示适当的阳性染色，应判定该批次样本的检测结果无效。

4、若生物素标记山羊抗兔 IgG 聚合物和辣根酶标记链霉卵白素工作液孵育温度过高或孵育时间过长，可能导致染色过强及背景染色。

【检验方法的局限性】

1、免疫组织化学染色是一种需通过多个操作步骤完成的检测过程。在组织前期处理和实验过程中的不规范操作，有可能影响实验结果。

2、专业的操作人员、经过认证的实验室和标准化的实验流程，可以减少各种外界因素造成的操作偏差。

3、红细胞和细胞色素 C 可能会造成假阳性结果。

4、某些组织中内源性生物素含量比较高，可能导致染色过强及背景染色。

5、阴性结果表示未检出抗原，不一定表示样本中无该抗原存在。待测抗原编码基因变异、抗原低表达或抗原修复不当等，都会造成抗原无法检出。

6、本试剂仅对 10%中性缓冲福尔马林固定石蜡包埋的组织进行了验证，不作其他用途。

【产品性能指标】

1、装量：试剂盒各组份的溶液装量应不少于标示装量。

2、符合性：取符合性组织片（包括阳性组织对照和阴性组织对照），经相应的免疫组化实验后，应阳性着色定位准确，且无背景染色；同时，空白对照和阴性对照染色结果为阴性。

3、批内重复性：取同一批次的试剂盒，检测组织片 3 片，染色强度和定位无明显差异。

【注意事项】

1、本染色液仅用于免疫组化，不做其他用途。

2、本染色液仅限专业人员使用。

3、应用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。

4、若将本染色液中的组分与其他公司的产品混合使用，在染色过程中可能出现异常情况。

5、超过有效期的试剂活性可能降低，因此不得使用过期的试剂盒。

6、脱蜡不彻底，容易影响染色效果，建议免疫组化切片脱蜡与常规 HE 脱蜡分开。

7、为防止可能出现的假阳性、假阴性结果，在实验过程中需设置阳性与阴性对照。

8、实验中滴加试剂时，过多的 PBS 缓冲液会导致试剂被稀释，将引起染色强度变弱，因此，滴加试剂前应除去多余的缓冲液。

9、使用中所产生的各种废弃物都应按《医疗废物管理条例》处理。

【参考文献】

1. Dabbs David J.诊断免疫组织化学（M）.北京：北京大学医学出版社，2008.9.

2. 张素娟.介绍一种新的免疫组化SP方法.第三次广东省病理技术学术会议.1993:41.

3. 任占平.应用SP免疫组化染色法的体会.诊断病理学杂志.1994.1(3):176.

4. Sabattini E, Bisgaard K, Ascani S, et al. The EnVision⁺⁺ system: a new immunohistochemical method for diagnostics and research. Critical comparison with the APAAP, ChemMate, CSA, LABC, and SABC techniques. J Clin Pathol 1998;51:506-11.

5. Bobrow MN, Harris TD, Shaughnessy KJ, et al. Catalyzed reporter deposition, a novel method of signal amplification application to immunoassays. J Immunol Methods 1989;125:279-285.

6. Adams JC. Biotin amplification of biotin and horseradish peroxidase signals in histochemical stains. J Histochem Cytochem 1992;40:1457-63.

7. Merz H, Malisius R, Mann-Weiler S, et al. Methods in laboratory investigation Immuno-Max: a maximized immunohistochemical method for the retrieval and enhancement of hidden antigens. Lab Invest 1995;73:149-56.

8. Ed Harlow, David Lane.抗体技术实验指南（M）.北京：科学出版社，2002:79-80,105.

【基本信息】

经 销 商：北京中杉金桥生物技术有限公司

联系方式：电话：010-63470385 400-810-9781 技术支持：010-63634171

网 址：<http://www.zsbio.com>

E-mail: sales@zsbio.com

【说明书批准及修改日期】2017.05.19

