

## IHC实验SOP

### 1.主要仪器

表1 实验所用主要仪器

所用仪器	仪器型号	公司
切片机	KD-3358-VI	科迪
显微镜	IX71	Olympus
生物安全柜	HFsafe-1500LC	Heal force
涡旋混合器	Servicebio	MX-F
掌上离心机	Servicebio	D1008E
移液枪	Dragon	KE0003087/KA0056573
电子天平	PL-203	梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司

### 2.主要试剂

表2 主要试剂及其生产公司

试剂名称	货号	生产公司
二甲苯	10023418	国药
无水乙醇	10009259	国药
95%医用酒精	100091680	国药
苏木素	B600020	三鹰
免疫组化试剂盒	KIHC-5	三鹰
Peroxidase-conjugated Affinipure Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)	ATPA00026Go	普健
Peroxidase-conjugated Affinipure Goat Anti-Mouse IgG (H+L)	ATPA00025Go	普健
4%多聚甲醛固定液	E672002	生工
BSA	V900933	sigma
山羊血清	C0265	碧云天

### 3.实验内容

- (1) 脱蜡 二甲苯，室温，两次，每次20分钟。
- (2) 水合 100%→100%→95%→90%→80%→70%乙醇→蒸馏水，每级5分钟。
- (3) 3%过氧化氢，室温孵育10分钟。蒸馏水冲洗。PBS浸洗5分钟。
- (4) 抗原修复。
- (5) PBS洗涤3分钟，3次。
- (6) 封闭用血清，室温孵育10-30分钟，倾去血清，勿洗。
- (7) 滴加适当比例稀释的一抗，37℃孵育60-90分钟，或者4℃过夜。

- (8) PBS洗涤3分钟，3次。
- (9) 辣根过氧化物酶标记抗兔/抗鼠IgG多聚体，室温30分钟。
- (10) PBS洗涤3分钟，3次。
- (11) 显色剂（DAB）显色反应，5-10分钟。光镜下控制显色程度。蒸馏水洗终止显色反应。
- (12) 细胞核复染 苏木素3-5分钟。流水冲洗蓝化。
- (13) 脱水70%→80%→90%→95%→100%→100%，每级5分钟。
- (14) 透明二甲苯2次，每次5分钟。
- (15) 中性树胶封固。

The end



• 一站式蛋白抗体发现服务

重组蛋白 · 抗体 · 噬菌体文库 · 诊断原料

—— 武汉国家生物产业基地 · 光谷抗体发现与筛选公共服务平台 ——