

YF®350/488/555/594/640/680/生物素 酪胺信号放大试剂盒

产品介绍

酪胺信号放大技术（Tyramide Signal Amplification, TSA）又称催化信号放大技术（Catalyzed Signal Amplification），是一类利用 HRP 对靶抗原进行高密度原位标记的酶学检测方法，其不但可以用于 IF/IHC 的信号放大，亦可用于 Elisa、ISH 等检测。

酪胺信号放大技术可以用于检测用传统方法无法检出的低丰度靶标。基于酪胺的信号放大技术能够提供极强的灵敏度、检测极微量的目的抗原。酪胺信号放大技术极大的降低抗体的用量，节约抗体。酪胺信号放大试剂盒可与传统染色方法结合使用以多色成像，也可以顺序进行两个或更多个酪胺反应以标记一个样品上的不同靶标。

应用范围

酪胺信号放大技术 TSA

产品信息

货号	产品名称	规格
Y6081S	YF®350 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗鼠 IgG	50 slides
Y6081L		200 slides
Y6082S	YF®350 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗兔 IgG	50 slides
Y6082L		200 slides
Y6083S	YF®350 酪胺信号放大试剂盒, HRP-链霉亲和素	50 slides
Y6083L		200 slides
Y6084S	YF®488 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗鼠 IgG	50 slides
Y6084L		200 slides
Y6085S	YF®488 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗兔 IgG	50 slides
Y6085L		200 slides
Y6086S	YF®488 酪胺信号放大试剂盒, HRP-链霉亲和素	50 slides
Y6086L		200 slides
Y6087S	YF®555 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗鼠 IgG	50 slides
Y6087L		200 slides
Y6088S	YF®555 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗兔 IgG	50 slides
Y6088L		200 slides
Y6089S	YF®555 酪胺信号放大试剂盒, HRP-链霉亲和素	50 slides
Y6089L		200 slides
Y6090S	YF®594 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗鼠 IgG	50 slides
Y6090L		200 slides
Y6091S	YF®594 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗兔 IgG	50 slides
Y6091L		200 slides
Y6092S	YF®594 酪胺信号放大试剂盒, HRP-链霉亲和素	50 slides
Y6092L		200 slides
Y6093S	YF®640 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗鼠 IgG	50 slides
Y6093L		200 slides
Y6094S	YF®640 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗兔 IgG	50 slides
Y6094L		200 slides
Y6095S	YF®640 酪胺信号放大试剂盒, HRP-链霉亲和素	50 slides
Y6095L		200 slides
Y6096S	YF®680 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗鼠 IgG	50 slides
Y6096L		200 slides
Y6097S	YF®680 酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗兔 IgG	200 slides
Y6097L		50 slides

货号	产品名称	规格
Y6098S	YF®680 酪胺信号放大试剂盒, HRP-链霉亲和素	50 slides
Y6098L		200 slides
B6099S	生物素酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗鼠 IgG	50 slides
B6099L		200 slides
B6100S	生物素酪胺信号放大试剂盒, HRP-羊抗兔 IgG	50 slides
B6100L		200 slides
B6101S	生物素酪胺信号放大试剂盒, HRP-链霉亲和素	50 slides
B6101L		200 slides

储存条件

-20°C 避光保存，有效期见外包装。冰袋运输。

产品组分

组分编号	组分名称	组分体积	
		50 slides	200 slides
见下表	Tyramide Stock Solution, 200×	25 µL	100 µL
见下表	HRP-conjugated	25 µL	100 µL
60011	BSA	0.5 g	2 g
60012	1× Tyramide Amplification Buffer	5 mL	20 mL

试剂盒组分编号

标记染料	Ex/Em	HRP-conjugated			Tyramide Stock Solution, 200×
		Goat anti-mouse IgG	Goat anti-rabbit IgG	Streptavidin	
YF®350	347/448	60008	60009	60010	60001
YF®488	490/515				60002
YF®555	555/565				60003
YF®594	590/617				60004
YF®640	642/662				60005
YF®680	681/698				60006
Biotin (生物素)	~				60007

注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 1×Tyramide Amplification Buffer 首次使用后，建议小量分装，-20°C 保存，避免反复冻融。
- 与荧光二抗相比，TSA 试剂盒显示出更高的灵敏度和更强的信号。因此，实验时一抗的使用浓度较低，这样可以降低非特异性结合带来的背景荧光，建议梯度设置一抗浓度以找到最佳浓度。
- 如果需要考虑背景荧光，建议设置未与一抗孵育的阴性对照。确保该阴性对照在孵育和洗涤过程中没有被阳性样品中的试剂交叉污染。对于组织样品，还建议对未染色的对照（不添加抗体或酪胺）进行成像，以确定组织自发荧光对背景的影响。
- 建议使用 5 µg/mL 的 HRP 结合物，降低浓度可能会影响信号强度和灵敏度。
- 建议 1:200 稀释 YF®/YO/Biotin - Tyramide。较高的浓度可能会导致信号过强或背景高，可以从 1:100 到 1:1000 摸索以找到最佳浓度。

- 可以在每个酪酰胺反应后通过进行 HRP 淬灭或抗体剥离,依次使用多个酪酰胺扩增试剂盒来标记同一样品上的不同靶标。
- 若做多色标记时, 依据抗原密度不同选择不同荧光素 (低密度抗原选择强染料; 高密度抗原选择较弱染料)。标记顺序对最终标记效果有一定影响, 需自行摸索。
- 本产品仅限于科研,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验材料 (自备)

- 1×PBS
- 多聚甲醛 (4%多聚甲醛 in PBS)
- 促渗试剂 (0.5% Triton X - 100 in PBS)
- 0.1 M 柠檬酸钠缓冲液 (pH 6.0)
- 一抗, 二抗
- 1×Tyramide Amplification Buffer (含过氧化氢)
- 30%过氧化氢
- 封闭缓冲液: 可将 1 g BSA 溶于 100 mL 含 0.5% Triton X - 100 的 PBS 中配置成封闭缓冲液, 也可选择市面上在售封闭缓冲液。

下列组分仅用于 Biotin-Tyramide 试剂盒中

- 生物素封闭清洗缓冲液: 含 1% BSA 和 0.05% Tween 20 的 PBS。
- 未标记的链霉亲和素溶液: 含 0.1 mg/mL 链霉亲和素的生物素封闭清洗缓冲液。
- 生物素溶液: 含 0.5 mg/mL 生物素的生物素封闭清洗缓冲液。
- 以下参考步骤, 可用于细胞或组织切片的酪酰胺染色, 每个样品使用 100 μ L 染色液 (足以覆盖 96 孔板的一个孔或约 1 cm^2 的组织部分)。可根据不同的样本尺寸增加或减少染色液用量。

实验步骤

1. 样本准备

(1) 细胞样品

- 可选: 准备一份阴性对照样本 (不孵育一抗的样本)。
- 1×PBS 清洗细胞两次。
- 细胞固定: 加入适量 4%多聚甲醛 (pH7.4) 溶液, 4°C放置 15 min。
- 1×PBS 清洗细胞两次。
- 通透细胞: 用配制于 PBS 中的 0.5% Triton X - 100 溶液通透, 室温放置 10 min。
- 1×PBS 清洗细胞两次。

(2) 石蜡组织切片

- 将石蜡切片放置在 60°C 的烘箱中 30 min。
- 室温下用二甲苯浸泡石蜡组织切片 2 次, 每次 5 min, 以彻底脱掉石蜡。
注: 二甲苯有毒, 易挥发, 请在通风橱中进行此操作。
- 室温下, 将切片样本浸没于无水乙醇中漂洗 2 次, 每次 5 min。
- 室温下, 将切片样本连续浸没在不同浓度梯度的乙醇 (95%、90%、80%、70%) 中, 每种浓度各漂洗 1 次, 每次 5 min。
- 室温下, 将切片浸没于纯水中漂洗 1 次, 每次 3 min, 再将切片浸没于 1×PBS 中漂洗 1 次, 每次 3 min, 用滤纸小心吸干切片样本周围多余液体。
- 用免疫组化笔在切片样本周围描绘样品轮廓, 以便下游通透与标记。
- 抗原修复: 将 0.1 M 柠檬酸盐缓冲液 (PH = 6.0), 用微波炉加热至沸腾, 将脱完蜡及复水好的片子置于缓冲液中间, 断煮沸 10 min。

注: ① 此过程中, 玻片上组织要一直浸没于缓冲液中, 以保证组织的抗原修复效果。抗原修复持续时间过后, 取出放于室温中让其慢慢地降温。

② 需根据不同的样本选择不同的抗原修复方法。

8) 1×PBS 清洗两次。

2. (可选) 内源性过氧化物酶灭活

如果需要, 可加入足够量的 3% Hydrogen Peroxide 覆盖样品并在室温下孵育 60 min, 淬灭样品的内源性过氧化物酶活性。

3. (可选) 内源性生物素阻断

进行链霉亲和素/生物素检测时, 建议阻断样品中的内源性生物素以减少背景。对于标记 YF®和 YO 染料的酪酰胺和 HRP 二抗的试剂盒来说, 可省略此步骤。

(1) 在室温下, 将样品与未标记的链霉亲和素溶液一起孵育 15 min, 然后使用生物素封闭清洗缓冲液将样品在室温下洗涤 3 次, 每次 5 min。

(2) 在室温下将样品与生物素溶液孵育 30 min, 以封闭链霉亲和素上多余的生物素结合位点。之后用生物素封闭清洗缓冲液洗涤样品 3 次, 每次 5 min。

4. 免疫标记

(1) 封闭: 用封闭缓冲液室温封闭 1 h。

(2) 用封闭缓冲液将一抗稀释至适当的浓度。将样品与一抗在室温下孵育 1 h 或 4°C过夜。

注: 如果使用含有 HRP - Streptavidin 的试剂盒, 请使用生物素偶联的一抗。

(3) 室温下 1×PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。

(4) 在封闭缓冲液中将 HRP - conjugated 以 1 : 200 稀释。用该溶液在室温下孵育上述样品 1 h。

(5) 室温下 1×PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。

(6) 用 1×Tyramide Amplification Buffer 以 1:200 稀释 Tyramide Stock Solution, 200×来制备染色液。每个样品准备 100 μ L 染色液。染色液在室温下避光保存, 最长可保存 24 h。

(7) 将样品与染色液在室温下孵育 10 min。

(8) 在室温下用 1×PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。

(9) (可选) 如果使用 Biotin-酪酰胺试剂盒, 可使用荧光标记的链霉亲和素进行荧光显色, 也可使用含 HRP 的链霉亲和素标记, 后使用 DAB 显色。

(10) 显微镜成像。对于载玻片上的组织样本, 请盖上盖玻片并密封后, 再显微镜成像。

5. 多色标记

组织样本: 经再次抗原修复 (方法同石蜡组织切片抗原修复步骤) 和 1×PBS 清洗两次后, 可在“免疫标记”步骤 (8) 后使用另一靶标的一抗 (与前一靶标相同或不同种属来源均可) 以及与第一种荧光酪酰胺光谱兼容的荧光标签, 重复免疫标记步骤 (1) ~ (8)。