

# 产 品 说 明 书

## YF®350/488/555/594/生物素酪胺信号放大试剂盒

产品规格：50 slides, 200 slides

产品货号：

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
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

产品内容:

表 1: 组分名称、编号及体积

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

表 2: 试剂盒组分编号

标记染料	Ex/Em	HRP-conjugated secondary antibody			YF®/Biotin Tyramide
		Goat anti-mouse IgG	Goat anti-rabbit IgG	Streptavidin	
YF®350	347/448	60008	60009	60010	60001
YF®488	490/515	60008	60009	60010	60002
YF®555	555/565	60008	60009	60010	60003
YF®594	590/617	60008	60009	60010	60004
Biotin (生物素)	~	60008	60009	60010	60007

## 储存条件

-20℃避光保存, 有效期见外包装。

色方法结合使用以多色成像, 也可以顺序进行两个或更多酪胺反应以标记一个样品上的不同靶标。

## 产品介绍

酪胺信号放大技术 (Tyramide Signal Amplification) 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

## 使用方法

### 自备试剂:

- 1× PBS
- 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)
- 30%过氧化氢
- 封闭缓冲液: 1 g BSA溶于100 mL含0.5% Triton X-100的PBS中, 或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

以下步骤，每个样品使用100  $\mu$ L染色液（足以覆盖96孔板的一个孔或约1 cm<sup>2</sup>的组织部分）。可以根据不同的样本尺寸增加或减少染色液用量。

### 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 $\times$  PBS 清洗细胞两次。
    - 细胞固定：加入适量 4%多聚甲醛（pH 7.4）溶液，4 $^{\circ}$ C 放置 15 min。
    - 1 $\times$  PBS 清洗细胞两次。
    - 通透细胞：加入促渗试剂，室温放置 10 min。
    - 1 $\times$  PBS 清洗细胞两次。
  - (2) 石蜡组织切片
    - 将石蜡切片放置在 60 $^{\circ}$ 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，将切片浸没于无水乙醇中漂洗 2 次，每次 5 min。
  - 室温下，将样本连续浸没在不同浓度的乙醇（95%、90%、80%、70%）中，每种浓度漂洗 1 次，每次 5 min。
  - 室温下，将切片浸没于纯水中 3 min，再将切片浸没于 1 $\times$  PBS 中 3 min，用滤纸吸干多余液体。
  - 用免疫组化笔描绘样品轮廓，以便下游通透与标记。
  - 抗原修复：将 0.1M 柠檬酸钠缓冲液（PH 6.0），用微波炉加热至沸腾，将切片置于缓冲液中，间断煮沸 10 min。注意：此过程中，组织要一直浸没于缓冲液中，以保证组织的抗原修复效果。抗原修复后，取出切片于室温中逐渐降温。

注：需根据不同的样本选择不同的抗原修复方法。

h. 1 $\times$  PBS 清洗两次。

### 2. (可选) 内源性过氧化物酶灭活

如需要，可加入足够量的 3%过氧化氢覆盖样品并在室温孵育 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。YF<sup>®</sup>染料标记的酪酰胺和 HRP 标记的二抗，可省略此步骤。

(1) 室温下，将样品与未标记的链霉亲和素溶液混匀后孵育 15 min 后，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) 室温下，将样品与生物素溶液混匀后孵育 30 min，以封闭链霉亲和素上多余的生物素结合位点。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浓度。将样品与一抗在室温下孵育 1 h 或 4 $^{\circ}$ C 过夜。

注：如果将该试剂盒与链霉亲和素一起使用，请使用生物素偶联的一抗。

(3) 室温下 1 $\times$  PBS 洗涤 3 次，每次 5 min。

(4) 用封闭缓冲液将 HRP-conjugated secondary antibody 以 1:200 稀释，室温孵育 1 h。

(5) 室温下 1 $\times$  PBS 洗涤 3 次，每次 5 min。

(6) 用 1 $\times$  Tyramide Amplification Buffer 将 Tyramide Stock Solution, 200 $\times$  以 1:200 稀释，每个样品加 100  $\mu$ L，室温孵育 10 min。稀释后的染色液可在室温下避光保存 24 h。

(7) 室温下 1 $\times$  PBS 洗涤 3 次，每次 5 min。

(8) 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。

(9) 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成像。



## 注意事项

1. 1×Tyramide Amplification Buffer 首次使用后，建议小量分装，-20℃保存，避免反复冻融。
2. 与荧光二抗相比，Tyramide 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，建议梯度设置一抗浓度以找到最佳浓度。
3. 建议设置未孵育一抗的阴性对照，确保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，建议对未染色的对照（不添加抗体或酪酰胺）进行成像，确定组织是否有自发荧光，排除对背景的影响。

4. 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。
5. 建议 1:200 稀释 YF<sup>®</sup>/Biotin-Tyramide。较高的浓度可能会导致信号过强或背景高，建议从 1:100 到 1:1000 梯度稀释。
6. 可依次使用多个 YF<sup>®</sup>/Biotin-Tyramide 来标记同一样品的不同靶标，每次酪酰胺反应后需进行 HRP 淬灭或抗体剥离。

