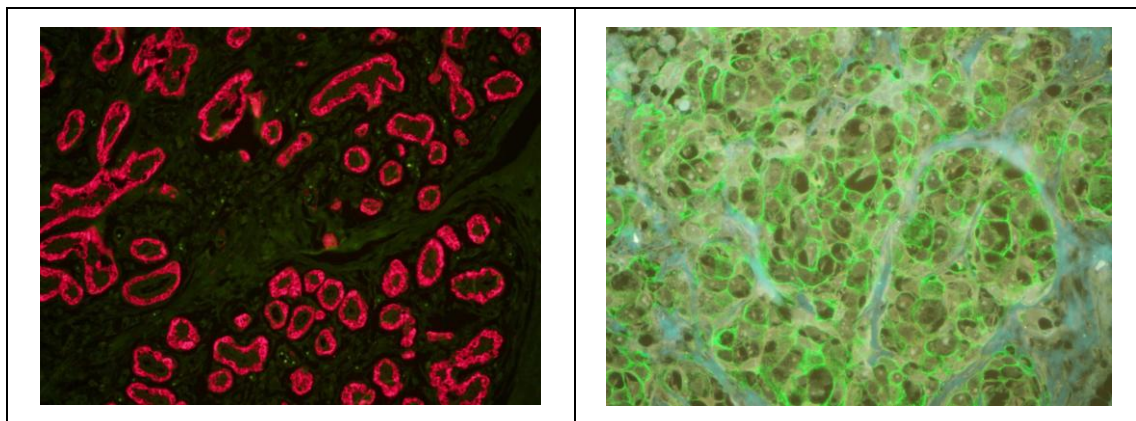




武汉珈源量子点技术开发有限公司  
WUHAN JIAYUAN QUANTUM DOTS CO.,LTD.

## 量子点超敏荧光试剂盒 (QDs-SA 系列)

Cat. nos.QK525S QK605S



[www.qds.net.cn](http://www.qds.net.cn)

---

# 目 录

一、试剂盒简介.....	1
二、试剂盒组成和保存条件.....	1
三、用户自备试剂.....	2
四、实验步骤.....	2
（一）石蜡包埋组织切片免疫染色步骤.....	2
（二）培养细胞免疫染色步骤.....	3
五、注意事项.....	4
六、应用实例.....	4
七、抗原修复方法.....	5
八、常见问题及解决方案.....	6
九、相关产品信息及成像条件.....	8
十、售后服务.....	10

## 一、试剂盒简介

该试剂盒以自主研发的量子点标记的链霉亲和素复合物（Qdots Streptavidin Conjugate, QDs-SA）为基础，可用于检测细胞、组织内的特异性抗原表达。在所用的一抗与相应靶抗原结合后，用生物化二抗与一抗特异性结合，最后加入QDs-SA，形成抗原—特异一抗—特异二抗—QDs-SA复合物，荧光显微镜下紫外或蓝光激发观察成像。

**注：**本产品为科研用试剂，提供的实验步骤为基本步骤，客户可根据具体情况对实验步骤进行调整和优化。

**适用范围：**冰冻组织切片、石蜡包埋组织切片、细胞爬片、细胞涂片等

**特点：**灵敏度高、特异性强、定位准确、信噪比高、荧光不易猝灭、激发光谱宽等

**成像平台：**正置/倒置荧光显微镜、激光共聚焦荧光显微镜等

## 二、试剂盒组成和保存条件

组分	组分名称	规格	保存条件
试剂A	Tween 20	5 mL/瓶，1瓶	
试剂B	缓冲液：2% BSA（用于封闭和稀释试剂）	25mL/瓶，2瓶	
试剂C	生物素化羊抗兔IgG或马抗鼠IgG 1支 （依客户需求提供不同产品，稀释比为1:300~1:500）	50 $\mu$ L/支，1支	2~8 $^{\circ}$ C
试剂D	QDs-SA复合物1支（浓度1 $\mu$ M，稀释比为1:50~1:200） （依客户需求提供不同波长的产品）	100 $\mu$ L/支，1支	
试剂E	通透液：0.1% Triton-X 100	10 mL/瓶，1瓶	
试剂F	缓冲甘油封固剂	10 mL/瓶，1瓶	

### 三、用户自备试剂

#### 1. 10 mM pH7.4 TBS

三羟基氨基甲烷	1.21 g
氯化钠	7.6 g

加蒸馏水900 mL，浓盐酸调pH值，最后定容至1000 mL

TBS-T: TBS+Tween 20 (试剂A) (0.05%体积比)

#### 2. 抗原修复液 (依检测抗原不同而选择不同的修复液)

##### 10 mM pH6.0 柠檬酸缓冲液

柠檬酸	0.38 g
柠檬酸三钠	2.45 g

加蒸馏水900 mL，浓盐酸调pH值至6.0，最后定容至1000 mL

或: 0.5M EDTA修复液 (pH8.0)

EDTA 2H <sub>2</sub> O	186.1 g
柠檬酸三钠	2.45 g

加蒸馏水900 mL，用10mM NaOH调pH值至8.0，最后定容至1000 mL

### 四、实验步骤

1. 所有浓缩型试剂均用试剂B稀释;
2. 所有封闭步骤均用试剂B封闭，封闭时间为37°C 15 min

#### (一) 石蜡包埋组织切片免疫染色步骤

石蜡包埋组织切片3~4 μm 厚度

- 1.烤片:** 将待做切片置于切片架上，于60 °C恒温烤箱中至少烤1 hr;
- 2.脱蜡:** 切片放入盛有二甲苯的容器中脱蜡3次 (即二甲苯 I、II、III)，每次10 min;
- 3.水化:** 切片经下行酒精水化，无水乙醇 5 min，95%乙醇 2次 (每次2 min)，85%乙醇 2 min; 75%乙醇 2 min，自来水冲洗，ddH<sub>2</sub>O洗 2×2 min;
- 4.抗原修复:** 根据抗体说明书推荐方法进行抗原修复，常采用高压、微波或酶消化修复法，室温自然冷却，自来水冲洗，ddH<sub>2</sub>O洗 2×2 min，TBS洗涤 (2×2 min)

(具体修复方法见附1) \* 注: 有些抗原勿需修复，直接进入第5步封闭。

- 6.加一抗:** 封闭, 滴加一抗, 37 °C湿盒孵育2 hr 或4°C过夜;  
\*注: 一抗最佳稀释比例需做预实验确定, 如为即用型则不用稀释。
- 7.洗涤:** TBS-T洗涤 (3×5 min) ;
- 9.加二抗:** 滴加用生物素化二抗 (试剂C), 37°C湿盒中孵育30 min;
- 10.洗涤:** TBS-T洗涤 (3×5 min) ;
- 12.加QDs-SA:** 封闭, 滴加QDs-SA复合物 (试剂D), 37°C湿盒中孵育30 min;
- 13.洗涤:** TBS-T洗涤 (3×5 min), TBS洗涤 (2×5 min) ;
- 14.封片:** 待组织标本干后, 用试剂F封片;
- 15.观察成像:** 荧光显微镜下紫外 (针对波长为525nm和605 nm的QDs-SA) 或蓝光激发 (针对波长为605 nm的QDs-SA) 观察成像。

## (二) 固定细胞免疫染色步骤

- 1.固定:** 小心移去培养基, 用TBS洗涤 (2×5 min), 加固定液室温作用10 min, 自然干燥;  
(建议固定液有以下几种: 1%中性甲醛、冷丙酮和95%酒精)
- 2.通透:** TBS洗涤 (2×5 min), 滴加试剂E, 37°C湿盒孵育10~20 min, ddH<sub>2</sub>O洗 2×2 min,  
TBS 洗涤 (2×2 min) ; (冰冻切片从第2步开始)  
\*注: 如为细胞核染色则应适当延长通透时间, 约至30 min。

后续步骤与石蜡包埋组织切片步骤5 (即加一抗) 后相同

## (三) 活细胞免疫染色步骤 (只适用于胞膜抗原检测)

- 1.细胞准备:** 6孔板培养细胞至汇合为80%时, 弃去培养基, TBS洗涤 (2×2 min) ;
- 2.加一抗:** 滴加用TBS稀释的一抗, 4°C湿盒孵育15 min, TBS 洗涤 (3×3 min) ; (\*可适当调整孵育时间, 一般10~30min)
- 3.加二抗:** 滴加用TBS稀释的试剂C, 4°C湿盒孵育10 min, TBS 洗涤 (3×3min) ; (\*可适当调整孵育时间, 一般10~20min)
- 4.加QDs-SA:** 滴加用TBS稀释的试剂D, 4°C湿盒孵育10 min, TBS 洗涤 (3×2 min) ; (\*可适当调整孵育时间, 一般10~20min, 此步孵育时间不能太长, 否则QDs-SA将有可能进入细胞内)
- 5.观察成像:** 荧光显微镜或激光共聚焦成像。

## 五、注意事项

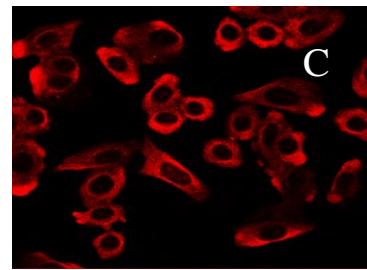
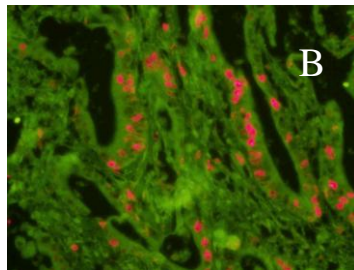
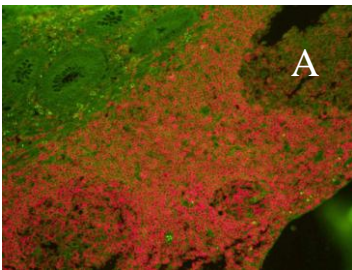
### 切片染色注意事项：

1. 修复后缓冲液须自然冷却，自来水冲洗后方能把切片取出，骤冷有可能导致结晶或抗原再次被封闭。
2. 若试剂为微量浓缩液，用前应低速离心，将内盖和管壁附着的溶液离到底部；尤其是QDs复合物用前最好高速离心（约8000 rpm）。
3. 封片前须换用TBS充分洗涤，以便洗去组织上残留的Tween 20，否则会影响结果观察。

### 细胞染色注意事项：

1. 使用冷丙酮固定时，切勿直接加入到孔板中，否则丙酮会腐蚀该器皿产生白色浑浊物。
2. 对于贴壁不牢固的细胞洗涤一定要温和。
3. 为避免抗体消耗过大，可在接种细胞时在孔板中放入盖玻片，待细胞贴壁后取出盖玻片，固定在载玻片上进行实验，对于仅配备正置荧光显微镜的客户建议采取此法。

## 六、应用实例



图A：组织切片胞膜染色

图B：组织切片胞核染色

图C：细胞爬片胞浆染色

Qdots：605 nm（红色）

Qdots：605 nm（红色）

Qdots：605 nm（红色）

成像：olympus BX51荧光显微镜，CCD为olympus DP72

成像：olympus BX51荧光显微镜，CCD为olympus DP72

成像：olympus BX51荧光显微镜，CCD为olympus DP72

激发：蓝光激发（背景为绿色）

激发：蓝光激发（背景为绿色）

激发：蓝光激发

## 七、抗原修复方法

较为常见的抗原修复方法为：高压、微波（温度达到98~100 °C）或酶消化修复法。修复完毕自然恢复至室温，流水冷却，取出切片用双蒸水轻柔冲洗（2次×2 min），TBS轻柔冲洗（2次×2 min）。

常用抗原修复液：0.01M柠檬酸缓冲液（pH6.0）和0.5M EDTA抗原修复液（pH8.0或9.0）。具体操作如下：

### （一）酶消化修复法

切片脱蜡水化处理，TBS轻柔冲洗（2次×2 min），在切片上滴加胃蛋白酶或胰蛋白酶，37 °C 孵育20~30 min后，TBS轻柔冲洗（2次×2 min）。

### （二）微波抗原修复法

将脱蜡水化后的切片置于耐高温塑料切片架上，完全浸没于盛有修复缓冲液的修复盒中，微波加热10~15 min，取出修复盒自然冷却至室温后，流水冲洗，取出切片用双蒸水轻柔冲洗（2×2 min），TBS轻柔冲洗（2次×2 min）。

### （三）直接高压抗原修复法

将抗原修复液置于不锈钢高压锅中加热至沸腾，将组织切片置于耐高温切片架上，浸没于沸腾的修复液中，盖上锅盖，待高压锅喷气后计时1.5~2.5 min即可停止加热，自然冷却至室温后，流水冲洗，取出切片用双蒸水轻柔冲洗（2次×2 min），TBS轻柔冲洗（2次×2 min）。此方法适用于较难检测的抗原，如胞核抗原的修复。

### （四）隔水式高压抗原修复法

在不锈钢高压锅中加入自来水煮沸，同时在微波盒中加入修复液于微波炉中加热至沸腾，将切片置于切片架中并放入微波盒内（修复液需完全浸没切片），再将微波盒放入高压锅内，盖上锅盖开始加热，待喷气后计时4~8 min即可停止加热，取出微波盒自然冷却至室温后，流水冲洗，取出切片用双蒸水轻柔冲洗（2次×2 min），TBS轻柔冲洗（2次×2 min）。

## 八、常见问题及解决方案

### 组织切片免疫染色

常见问题	可能原因	解决方案
脱片	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.组织固定、脱水透明不充分；</li> <li>2.组织切片太厚；</li> <li>3.组织切片有折叠；</li> <li>4.抗原修复过度（温度过高、时间过长或pH值偏高）</li> <li>5.冲洗方法不对；</li> <li>6.玻片没有经过防脱处理；</li> <li>7.烤片不充分。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.取材后及时固定，脱水透明要充分彻底；</li> <li>2.切片3~4 μm厚；</li> <li>3.贴片时避免组织折叠；</li> <li>4.采用温和抗原修复方法，适量减少修复时间，保持温度在98~100 °C；修复时用不锈钢或耐高温塑料切片架，不能使用铜架，以防pH值改变；</li> <li>5.避免直接对着组织处直接冲洗；</li> <li>6.玻片清洗后须采用防脱片处理，如用多聚-L-赖氨酸或APES处理。</li> <li>7.切片后应立即于60 °C烤箱中烤片过夜或80 °C烤片1~2 hr；脱蜡前也于60 °C烤片过夜。</li> </ol>
阴性结果	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.操作步骤错误；</li> <li>2.组织中无抗原；</li> <li>3.一抗与QDs复合物种属连接错误；</li> <li>4.一抗或其它试剂活性降低；</li> <li>5.修复不到位；</li> <li>6.激发光源选择错误。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.重新实验，设立阳性对照；</li> <li>2.设立阳性对照，以验证实验结果；</li> <li>3.仔细确认一抗与QDs复合物的种属无误；</li> <li>4.确认试剂有效期或重新检测抗体效价。</li> <li>5.改善修复方法，延长时间；或微波修复换用高压修复；或柠檬酸修复缓冲液换成EDTA修复液；</li> <li>6.确认激发光选择正确，525 nm的QDs复合物建议用紫外激发，605 nm的QDs复合物可用紫外或蓝光。</li> </ol>
阳性太弱	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.试剂浓度过低或孵育时间过短；</li> <li>2.试剂超过有效期；</li> <li>3.操作中，滴加试剂时缓冲液未沥干，导致试剂稀释；</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.提高试剂浓度，延长孵育时间，如37 °C孵育1~2 hr后再转入4 °C过夜等等；</li> <li>2.检查试剂有效期，如过期则应及时更换试剂；</li> <li>3.每步滴加试剂前都要沥干多余的缓冲液，但是要</li> </ol>



	4.组织处理时抗原被破坏，残留抗原未被抗体检出； 5.封闭过度； 6.修复不到位，抗原暴露不完全。	防止切片干燥； 4.新鲜组织取材后应及时固定，防止自溶； 5.相对缩短封闭时间； 6.改善修复方法。
<b>染色过强</b>	1.一抗浓度过高或孵育时间过长； 2.孵育温度过高； 3.QDs复合物终浓度过高或孵育时间过长。	1.降低一抗浓度，缩短抗体孵育时间； 2.孵育温度不能高于37℃； 3.降低QDs复合物浓度，缩短孵育时间。
<b>非特异性染色</b>	1.操作过程中冲洗不充分； 2.加试剂前切片干燥； 3.组织切片折叠； 4.组织抗原弥散； 5.封闭不充分； 6.一抗不纯。	1.保证每步冲洗不低于3×5 min； 2.防止切片干燥，必要时可以重做； 3.勿在折叠处观察染色结果； 4.新鲜组织及时固定，固定要符合标准； 5.延长封闭时间，特别是在加QDs复合物之前； 6.做好对照，换用纯度高的抗体。
<b>QDs复合物团聚</b>	1.QDs复合物超过有效期； 2.QDs复合物保存不当。	1.确认QDs生物复合物产品在有效期内，若过期则应购买新产品； 2.QDs复合物应以浓缩液保存，不要保存稀释液。
<b>成像不清晰</b>	1.显微镜焦距不对； 2.封片前缓冲液未沥干； 3.荧光过暗。	1.重新校正显微镜光学系统； 2.封片前须彻底沥干组织上的多余水分，残留的水分会导致成像模糊； 3.调整曝光时间，或连续激发2 min以后再成像； 检查显微镜shutter按钮是否在正确的位置。

### 培养细胞及冰冻切片免疫染色

常见问题	可能原因	解决方案
<b>非特异性染色</b>	1.细胞未及时固定，杂菌污染导致； 2.细胞过密。	1.细胞应及时固定以免杂菌污染； 2.细胞密度保证在50%~80%之间。
<b>阳性太弱</b>	1.细胞处理不完全。	1.延长通透液处理时间；本试剂盒配套的通透液为0.1% Triton-X 100，如果阳性太弱可自配更高浓度的Triton-X 100，如1%。（特别是检测细胞核抗原）

## 九、相关产品信息及成像条件

细胞、组织量子点免疫荧光单染试剂盒			
货号	名称	规格	价格
QK525S	量子点超敏荧光试剂盒-525 (QDs-SA)	100-200T	¥1650
QK605S	量子点超敏荧光试剂盒-605 (QDs-SA)	100-200T	¥1650
QK525M	量子点超敏荧光试剂盒-525(QDs 标记山羊抗小鼠 IgG)	100-200T	¥1650
QK605M	量子点超敏荧光试剂盒-605(QDs 标记山羊抗小鼠 IgG)	100-200T	¥1650
QK525R	量子点超敏荧光试剂盒-525 (QDs 标记山羊抗兔 IgG)	100-200T	¥1650
QK605R	量子点超敏荧光试剂盒-605 (QDs 标记山羊抗兔 IgG)	100-200T	¥1650
量子点免疫荧光双染试剂盒			
货号	名称	规格	价格
QDK001	量子点免疫荧光双染试剂盒 (QDs-525 标记抗兔 IgG +QDs-605 标记抗小鼠 IgG)	50-100T	¥1850
QDK002	量子点免疫荧光双染试剂盒 (QDs-525 标记抗小鼠 IgG+QDs-605 标记抗兔 IgG)	50-100T	¥1850
量子点活细胞示踪试剂盒(Qdot-Tracing)			
货号	名称	规格	价格
QK525CT	量子点活细胞示踪试剂盒-525	50-100T	¥2150
QK605CT	量子点活细胞示踪试剂盒-605	50-100T	¥2150
量子点 Western Blotting 试剂盒 (Qdot-WB)			
货号	名称	规格	价格
QK525WB	量子点蛋白印迹试剂盒-525 (QDs-SA)	100-200T	¥1650
QK605WB	量子点蛋白印迹试剂盒-605 (QDs-SA)	100-200T	¥1650
“组合型”免疫荧光双染试剂盒			
货号	名称	规格	价格
QDK003	免疫荧光双染试剂盒 (QDs-605+Alexa Fluor488)	50-100T	¥1250
QDK004	免疫荧光双染试剂盒 (QDs-605+Dylight405)	50-100T	¥1250

## 试剂盒涉及量子点激发及发射波长

名称	Excitation (nm)	Emission (nm)
Qdots 525nm	<500 (385-465), 紫外	525
Qdots 605nm	<580 (405-565), 蓝光	605

## 新一代有机荧光染料

货号	名称	规格	价格	Ex(nm)	Em(nm)
YR001	Dylight405 标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	405	421
YR002	Alexa Fluor 488 标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	488	519
YR003	Alexa Fluor 594 标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	594	614
YR004	Alexa Fluor 647 标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	647	670
YR005	生物标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥198.00	-	-
YM001	Dylight405 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	405	421
YM002	Alexa Fluor 488 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	488	519
YM003	Alexa Fluor 594 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	594	614
YM004	Alexa Fluor 647 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	647	670
YM005	生物标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥198.00	-	-
YT001	Dylight405 标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	405	421
YT002	Alexa Fluor 488 标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	488	519
YT003	Alexa Fluor 594 标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥425.00	594	614
YT005	生物标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥198.00	-	-
YG002	Alexa Fluor 488 标记驴抗山羊 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥455.00	488	519
YG003	Alexa Fluor 594 标记驴抗山羊 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥455.00	594	614
YG005	生物标记驴抗山羊 IgG (H+L)	100 $\mu$ L	¥255.00	-	-

## 十、售后服务

服务电话：027-68789339 027-87158543

技术服务：tel: 13429873429（黄燕华） 13317108587

E-mail: [hyh1985921@yahoo.com.cn](mailto:hyh1985921@yahoo.com.cn)

联系地址：武汉市东湖高新区高新大道 666 号“光谷生物城”生物技术研究院  
B6 栋 1 楼

武汉珈源量子点技术开发有限公司

更多信息可在公司网站查询 [www.qds.net.cn](http://www.qds.net.cn)