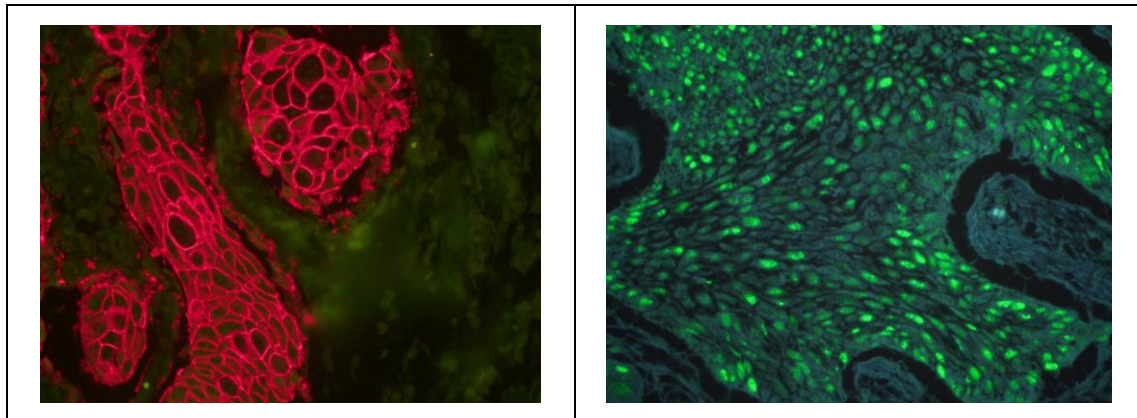




武汉珈源量子点技术开发有限公司
WUHAN JIAYUAN QUANTUM DOTS CO.,LTD.

量子点超敏荧光试剂盒 (QDs-IgG 系列)

Cat. nos. QK525M QK605M QK525R QK605M



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.....	1
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.....	3
六、应用实例.....	4
七、抗原修复方法.....	4
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

本试剂盒以量子点标记的二抗IgG复合物（Quantum Dots-IgG Conjugate, QDs-IgG）为荧光标记物，用于检测组织和细胞内的特异性抗原表达。特异性一抗与相应靶抗原结合后，加入QDs-IgG复合物与一抗特异性结合，形成“抗原—一抗—QDs-IgG”复合物，在荧光显微镜下用紫外或蓝光激发荧光成像。

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)	25 mL/瓶, 2瓶	
试剂C	QDs-IgG复合物1支 (1 μ M, 稀释比为1:25-1:100) (依客户需求提供不同波长、不同种属的产品)	100 μ L/支, 1支	2~8 $^{\circ}$ C
试剂D	通透液: 0.1% Triton-X 100	10 mL/瓶, 1瓶	
试剂E	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1000mL	

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：0.5 M EDTA修复液（pH8.0）

EDTA 2H ₂ O	186.1 g
柠檬酸三钠	2.45 g
加蒸馏水900 mL，用10 mM 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 2min；75%乙醇 2 min，自来水冲洗，ddH₂O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，ddH₂O洗 2×2 min，TBS 洗涤（2×2 min）
（具体修复方法见附3） * 注：有些抗原无需修复，直接进入第5步封闭。
- 5. 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。
- 6. 洗涤：** TBS-T洗涤（3×5 min）；
- 7. 加QDs-IgG：** 封闭，滴加试剂C，37°C湿盒中孵育45~60 min；
- 8. 洗涤：** TBS-T洗涤（3×5 min），TBS洗涤（2×5 min）；
- 9. 封片：** 待组织标本干后，用试剂E封片；

10.观察成像： 荧光显微镜下紫外（针对波长为525 nm和605 nm的QDs-IgG）或蓝光激发（针对波长为605 nm 的QDs-IgG）观察成像。

（二）培养细胞免疫染色步骤

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D，37℃湿盒孵育10~20 min，ddH₂O洗 2×2 min，
TBS 洗涤（2×2 min）；（冰冻切片从此步开始）

***注：如为细胞核染色则可适当延长通透时间，约至30 min。**

后续步骤与石蜡包埋组织切片步骤5后相同（即加一抗）。

五、注意事项

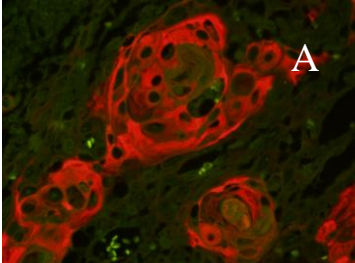
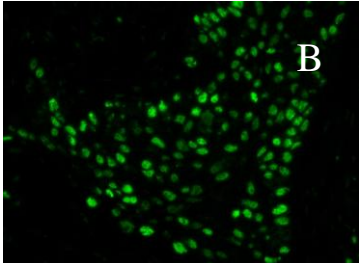
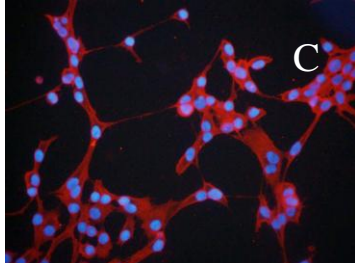
切片染色注意事项：

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

		
<p>图A: 组织切片胞浆染色 Qdots: 605nm (红色) 成像: olympus BX51荧光显微镜, CCD为olympus DP72 激发: 蓝光激发 (背景为绿色)</p>	<p>图B: 组织切片胞核染色 Qdots: 525nm (绿色) 成像: olympus BX51荧光显微镜, CCD为Nuance Fx (处理后背景为黑色) 激发: 蓝光激发</p>	<p>图C: 细胞爬片胞浆染色 Qdots: 605nm (红色) 成像: olympus BX51荧光显微镜, CCD为olympus DP72 激发: 紫外光激发, 蓝色为DAPI复染的细胞核</p>

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℃）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℃孵育20~30min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10~15min，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×2min）。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"> 1.组织固定、脱水透明不充分； 2.组织切片太厚； 3.组织切片有折叠； 4.抗原修复过度（温度过高、时间过长或pH值偏高） 5.冲洗方法不对； 6.玻片没有经过防脱处理； 7.烤片不充分。 	<ol style="list-style-type: none"> 1.取材后及时固定，脱水透明要充分彻底； 2.切片3~4 μm厚； 3.贴片时避免组织折叠； 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； 5.避免直接对着组织处直接冲洗； 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。 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。
阴性结果	<ol style="list-style-type: none"> 1.操作步骤错误； 2.组织中无抗原； 3.一抗与QDs复合物种属连接错误； 4.一抗或其它试剂活性降低； 5.修复不到位； 6.激发光源选择错误。 	<ol style="list-style-type: none"> 1.重新实验，设立阳性对照； 2.设立阳性对照，以验证实验结果； 3.仔细确认一抗与QDs复合物的种属无误； 4.确认试剂有效期或重新检测抗体效价。 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； 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。
阳性太弱	<ol style="list-style-type: none"> 1.试剂浓度过低或孵育时间过短； 2.试剂超过有效期； 3.操作中，滴加试剂时缓冲液未沥干，导致试剂稀释； 	<ol style="list-style-type: none"> 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； 2.检查试剂有效期，如过期则应及时更换试剂； 3.每步滴加试剂前都要沥干多余的缓冲液，但是要

	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。
染色过强	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。
非特异性染色	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。
QDs复合物团聚	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。
成像不清晰	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
非特异性染色	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。
阳性太弱	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 μL	¥425.00	405	421
YR002	Alexa Fluor 488 标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	488	519
YR003	Alexa Fluor 594 标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	594	614
YR004	Alexa Fluor 647 标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	647	670
YR005	生物标记山羊抗兔 IgG (H+L)	100 μL	¥198.00	-	-
YM001	Dylight405 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	405	421
YM002	Alexa Fluor 488 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	488	519
YM003	Alexa Fluor 594 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	594	614
YM004	Alexa Fluor 647 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	647	670
YM005	生物标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥198.00	-	-
YT001	Dylight405 标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	405	421
YT002	Alexa Fluor 488 标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	488	519
YT003	Alexa Fluor 594 标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥425.00	594	614
YT005	生物标记山羊抗大鼠 IgG (H+L)	100 μL	¥198.00	-	-
YG002	Alexa Fluor 488 标记驴抗山羊 IgG (H+L)	100 μL	¥455.00	488	519
YG003	Alexa Fluor 594 标记驴抗山羊 IgG (H+L)	100 μL	¥455.00	594	614
YG005	生物标记驴抗山羊 IgG (H+L)	100 μL	¥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

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