

Ksp-Cadherin

抗体试剂/检测试剂盒（免疫组织化学）说明书

【产品名称】

Ksp-Cadherin 抗体试剂/检测试剂盒（免疫组织化学）

【包装规格】

1. 浓缩型：100 μ l/管。
2. 浓缩型：1ml/管。
3. 预稀释即用型：1ml/管。
4. 预稀释即用型：3ml/管。
5. 预稀释即用型：7ml/管。

注：浓缩液建议稀释比：1:50 - 1:100

【预期用途】

在常规染色（如：HE 染色）基础上进行免疫组织化学染色，为医师提供诊断的辅助信息。

【检验原理】

利用抗原抗体特异性结合的原理，本试剂作为一抗，在免疫组织化学染色中，特异性结合组织中的抗原，形成抗原抗体复合物，酶标二抗与该复合物特异性结合，并通过酶促 DAB 显色，使得组织切片中相应抗原位置出现着色；显微镜检切片，判读结果。

为了质量控制，建议使用福尔马林固定石蜡包埋的肾组织切片作为阳性对照。

细胞染色定位为细胞膜/细胞质。抗原修复采用 EDTA pH9.0 热修复或高压修复。

【主要组成成分】

Ksp-Cadherin，克隆号：IHC611，兔单抗

Tris 缓冲液，牛血清白蛋白（浓缩型为1%，预稀释即用型为0.3%）。

【储存条件及有效期】

1. 储存条件：浓缩型-20 $^{\circ}$ C 冻存，有效期3 年，预稀释即用型2-8 $^{\circ}$ C 保存，有效期为 18 个月。使用时即拿即用，使用后应立即放回冰箱。
2. 运输条件：泡沫箱加冰袋密封常温运输，运输时间不超过 1 周。
3. 生产日期、失效日期：见标签。

【适用仪器】

适用于免疫组化自动染色机或手工染色。

【样本要求】

本产品适用于 10%中性福尔马林固定，石蜡包埋（FFPE）各类组织细胞样本。病理组织块一般取材 3-5mm 厚，首先用 10%中性福尔马林固定，再用乙醇和二甲苯（或二甲苯替代物）脱水透明，石蜡浸蜡。组织取材后应立即放入中性福尔马林固定，固定时间约为6-48 h。应当使用低熔点石蜡（<60 $^{\circ}$ C）进行组织包埋。石蜡包埋后，制作 4 μ m 组织切片。切片用载玻片应为正电荷处理过的载玻片，

增加组织细胞在载玻片上的粘附性，以保证组织在整个染色过程中不会脱落。制作的切片应当放在 2-8 °C 环境中避光保存。

【检测方法】

1. 检测所需仪器、设备

移液器、恒温培养箱、计时器、孵育盒、染色架、高压锅等

2. 溶液配制

PBS 溶液、DAB 显色液的配制参见各产品说明书

3. 实验步骤

3.1 手工染色

3.1.1 脱蜡、水化和抗原修复：

- 1) 脱蜡前，应将切片在65°C 恒温箱中烘烤30 min；
- 2) 切片置于二甲苯中浸泡，更换2 次二甲苯，每次浸泡10 min；
- 3) 切片置于无水乙醇中浸泡两次，每次2 min，95°C 乙醇中浸泡2 min，75% 乙醇中浸泡2 min；
- 4) PBS 缓冲液洗3 次，每次3 min；
- 5) 高压锅中加入 EDTA pH9.0 热修复或高压修复，高火预热；待修复液沸腾后将切片置于其中，完全浸泡组织，盖好锅盖，扣上压力阀继续加热；待限压阀开始转动喷气后调至中火，同时开始计时 2.5 min；计时结束后离开热源，放气降压后将高压锅移入冷水中冷却；待锅中液体冷却至室温后取出切片；
- 6) PBS 缓冲液洗3 次，每次3 min。

3.1.2 手工染色步骤：

- 1) 内源性过氧化物酶屏蔽。使用 3%的双氧水滴加在切片上室温静置10 min，此步骤应避光操作；
 - 2) PBS 缓冲液洗3 次，每次3 min；
 - 3) 将浓缩型抗体用抗体稀释液稀释50 倍或直接使用预稀释即用型抗体，滴加100µl 在切片上，室温静置1h；
 - 4) PBS 缓冲液洗3 次，每次3 min；
 - 5) 除去 PBS 缓冲液，滴加 100µl 酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物于切片上，室温静置30 min；
 - 6) PBS 缓冲液洗3 次，每次3 min；
 - 7) 应用 DAB 显色液显色，3 - 5 min。自来水冲洗终止反应。
 - 8) 应用苏木素反染，滴加苏木素于切片上，静置10 - 30 s，用自来水温柔冲洗结束染色；
 - 9) PBS 溶液或自来水冲洗返蓝；
 - 10) 自来水浸泡 1 次，75%乙醇脱水处理 1 次，95%乙醇脱水处理 1 次，100%乙醇脱水处理 2 次，每次室温下静置 3min；
 - 11) 用二甲苯透明3 次，每次3 min。
 - 12) 使用中性树脂胶加盖片，完成染色。
- ##### 3.2 自动染色仪器操作步骤
- 1) 使用软件按照仪器染色方案设置染色程序，并打印标签；
 - 2) 在自动染色机上装入贴有标签的载玻片；

- 3) 确认试验用试剂已放置在相应位置；
- 4) 进入仪器操作软件进行操作设置；
- 5) 运行，进行自动染色。

具体操作参见自动染色机操作手册。

4. 结果判断

每一批次检测样本应同时设立阳性/阴性对照，最终检验结果由具有临床资质的病理医生来判读以便确定检验结果能否用于相对应病人的辅助诊断。

阳性：检测组织目标细胞可观察到棕黄色细胞膜/细胞质，且无背景染色。

阴性：检测组织目标细胞未观察到棕黄色细胞膜/细胞质。

【检测方法的局限性】

免疫组化是一种多步骤病理诊断的过程，试剂的选择，组织的选择，固定和处理，切片的准备，染色及结果的解释需要进行专门的培训。

任何阳性或阴性结果的解读，应由病理医生结合病理形态、临床表现及其他检测方法进行，不作为单独的诊断指标。

不恰当的染色前组织处理直接影响染色效果，造成假阳性、抗体定位不准或者假阴性。结果不一致可能是由样本固定和包埋方法不同或者组织样本内固有差异造成的。

复染过度或不足可能影响结果的判读。

阴性结果表明未检出抗原，不一定样本中无该抗原存在，待检测抗原编码基因变异、抗原低表达、抗原修复不当或孵育时间不足等，都会造成该抗原无法检出。

假阳性的结果可能是由蛋白或底物反应产物的非免疫学结合造成的，也可能是由红蛋白和细胞色素C造成的。

【产品性能指标】

1. 外观：无色, 无味, 液体状态。
2. 装量：用精密移液器准确称量。
3. 染色测试：免疫组化染色方法。

【注意事项】

本品仅用于体外诊断，不做其他用途。

本试剂需专业人员使用。

检测结束后，试剂和样本的处理应符合相关要求。

应用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。