

T/B 淋巴细胞免疫组化双染检测试剂盒

产品编号:Kit-8803 /8804

前言

迈新 T/B 淋巴细胞免疫组化双染试剂盒采用组合式单克隆抗体和双酶标记方法，在一张淋巴组织切片中同时检测两种抗原：CD20 和 CD3。CD20 是 B 淋巴细胞特异标记物，主要标记 B 细胞、前 B 细胞后期和浆细胞前的 B 细胞。此抗体识别大多数 B 细胞，可以用于标记 B 淋巴细胞及 B 细胞淋巴瘤。CD3 抗体主要用于标记 T 淋巴细胞及 T 细胞淋巴瘤。CD3 对早期 T 细胞有较高的特异性，对 B 细胞不表达，可以用于 T 细胞淋巴瘤的诊断。这样采用两种组合式抗体就能在同一张切片中直接观察 T/B 细胞的数量和分布情况，便于分析病变的性质及淋巴肿瘤分类。本试剂盒采用非生物素放大系统，较传统双染实验大大缩短了实验时间，并有效避免了内源性生物素的干扰。

应用范围

本试剂盒适用于淋巴瘤的诊断和分类、淋巴组织 T/B 淋巴细胞免疫结构的研究，适用于常规福尔马林固定石蜡包埋切片。

试剂盒组成

试剂 1:	双染试剂盒专用抗原修复液		100ml
试剂 2:	即用型过氧化酶阻断剂(Endogenous Peroxidase Blocking Solution)		6ml/3ml
试剂 3:	即用型正常非免疫动物血清 (Non-Immunone Serum)	蓝色溶液	6ml/3ml
试剂 4:	即用型组合(cocktail)一抗 (CD3+CD20)	绿色溶液	6ml/3ml
试剂 5A:	酶标第二抗体(Enzyme-secondry antibody)A (2×)	红色溶液	3ml/1.5ml
试剂 5B:	酶标第二抗体反应液(Enzyme-secondry antibody reaction solution)B(2×)	紫色溶液	3ml/1.5ml
试剂 6:	即用型显色液 A		12ml/6ml
试剂 7A:	显色剂 B 缓冲液 (Buffer) (20×)		2ml/1ml
试剂 7B:	显色剂 B 底物 (Substrate) (20×)		2ml/1ml
试剂 7C:	显色剂 B 染色液(Chromogen)(20×)		2ml/1ml
试剂 8:	苏木素复染液		12ml/6ml
试剂 9:	即用型水性封片剂		18ml/9ml
反应管 1:	用于混合试剂 5A 和 5B		2ml/支
反应管 2:	用于混合试剂 7A、7B、7C		2ml/支

需要但不提供的材料和试剂

用于显微镜下观察的切片、温度能维持在 $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 的烘箱、10%中性缓冲福尔马林、染色盒、定时器、二甲苯、95%/85%/无水乙醇、染色架、苏木素复染剂、盖玻片、光学显微镜。

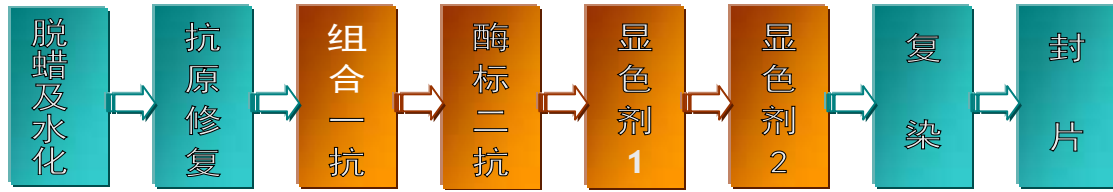
E-mail: info@maxim.com.cn

http://www.maxim.com.cn

免费电话: 800-8581156 400-8899853

传真: 0591-83720685

免疫组化染色步骤流程图：



免疫组化染色步骤

1. 石蜡切片脱蜡、水化后， PBS冲洗3×3分钟。
2. 对组织进行有效抗原修复：双染试剂盒专用抗原修复液（试剂1），100℃煮沸20分钟，自然冷却至室温，自来水冲净，PBS冲洗3×3分钟。（为防止组织脱片，请使用poly-L-lysine玻片，迈新编号 SLI-2001）。
3. 如判断组织中有内源性过氧化物酶干扰，除去PBS液，可每张切片加1滴或50μl过氧化物酶阻断溶液(试剂2)，室温下孵育10分钟，以阻断内源性过氧化物酶的活性。PBS冲洗3×3分钟。
4. 除去PBS液，每张切片加1滴或50μl正常非免疫动物血清(试剂3)，室温下孵育10分钟。
5. 除去血清，每张切片加1滴或50μl的组合第一抗体(试剂4)，室温下（15-28℃）孵育60分钟。PBS冲洗3×5分钟。
6. 除去PBS液，每张切片加1滴或50μl新鲜配制酶标第二抗体(试剂5)，室温下孵育15分钟。PBS冲洗3×3分钟，再蒸馏水冲洗两次（使用前试剂5的临时配制方法：根据所染片数，在试剂盒所提供的反应管1内按1：1的比例混合试剂5A和试剂5B，即配即用）。
7. 除去蒸馏水，每张切片加2滴或100μl显色液A(试剂6)，避光显色10-20分钟，可在显微镜下根据颜色的发展掌握染色时间，阳性信号为蓝黑色。用蒸馏水冲洗两次。
8. 除去蒸馏水，每张切片加2滴或100μl新鲜配制的显色剂B(试剂7)，在37℃下显色10-20分钟，可在显微镜下根据颜色的发展掌握染色时间，阳性染色为红色。蒸馏水冲洗三次。（试剂7染色液配制方法：于反应管2中加0.85ml蒸馏水，加试剂7A、7B、7C各一滴或50μl，充分混匀，即配即用。）
9. 除去蒸馏水，加2滴苏木素(试剂8)浅染10-20秒，PBS返蓝，自来水稍洗。
10. 除去多余水分，趁组织片湿润未干时，直接滴加水性封片剂（试剂9）2—4滴封片（禁止用中性树脂），用干净的牙签摊平后，60℃烘干15-30分钟(烘烤过程中要注意观察，防止翘起)。水性封片剂干燥后，待自然冷却，再用中性树脂胶封片，可长期保持颜色不褪。

结果分析

CD20主要表达于B细胞、前B细胞后期和浆细胞前的B细胞及其来源的肿瘤细胞胞膜上，呈红色；CD3显色于T淋巴细胞及T细胞来源的肿瘤细胞胞膜上，呈黑色。

试剂盒贮存条件

本产品应尽量避免接触皮肤和衣物。因试剂内含有叠氮钠，因此在处理试剂沉着物时应尽量冲洗干净。本试剂盒宜4℃保存，稳定期1年。

E-mail: info@maxim.com.cn

http://www.maxim.com.cn

免费电话: 800-8581156 400-8899853

传真: 0591-83720685

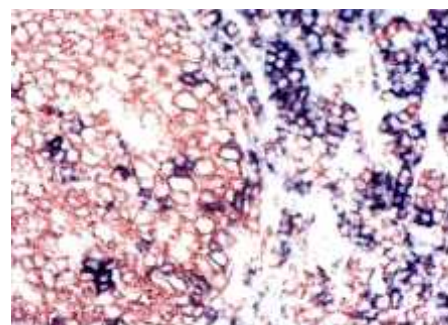
注意事项

1. 若将本试剂盒的任一试剂与其他公司的试剂混合使用，我们将不能保证染色结果的有效性。
2. 过有效期的试剂盒中一种或多种试剂的活性可能降低，因此尽量不使用过期的试剂，以保证结果的可靠。
3. 提供的试剂已为最佳滴度，进一步稀释将导致抗原染色的减弱，任何此类的改变都应由使用者确认。组织处理和技术过程的不同将可能导致必备的常规染色内部对照的结果的显著不同。
4. 不同于指定说明的孵育时间和温度将可能导致错误结果，任何此类的变化都应由使用者确认。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则会出现错误结果，试剂及操作过程应避免长时间暴露在强光下。

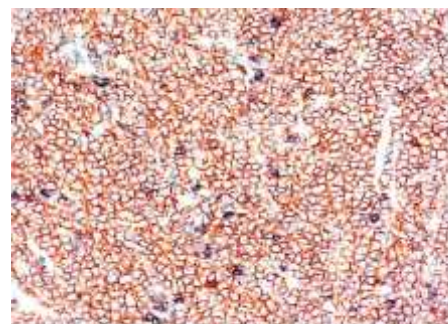
参考文献

1. Kalyan K, Basu D, Soundararaghavan J. Immunohistochemical typing of non-Hodgkin's lymphoma-comparing working formulation and WHO classification. Indian J Pathol Microbiol. 2006 Apr; 49 (2) :203-7.
2. Vaessen LM et al. **A mouse IgG3 anti-human CD3 monoclonal antibody with strong antigen modulating and T cell eliminating properties.** Transplant Proc 1989 21:1026-7.
3. Algino KM; et al. **Differentiation antigen of B cells and the. expression of CD20 is restricted to normal Canine B Cells and in Canine non-Hodgkin Lymphoma** American J of Clinical. Pathol, 1996, 106(1):78-81.

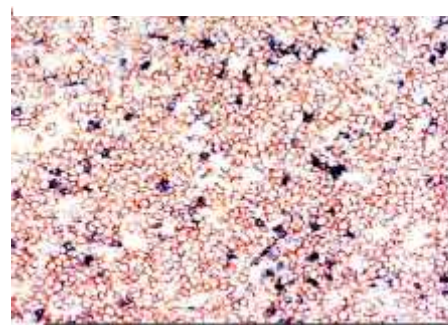
福州市工业路洪山科技园 2 号楼
免费联系电话：8008581156
技术支持：0591-83732741



慢性扁桃体炎,淋巴滤泡、红色为 CD20 表达显示淋巴 B 区;黑色为 CD3 表达显示淋巴 T 区。



肺弥漫性大 B 细胞淋巴瘤，红色为肿瘤细胞 CD20 表达;黑色为肿瘤中反应性 T 淋巴细胞 CD3 阳性。



弥漫性 B 细胞淋巴瘤，红色为肿瘤细胞 CD20 表达;黑色为肿瘤中反应性 T 淋巴细胞 CD3 阳性。