

Tris 抗原修复液 (10×, pH10.0) 使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8318	Tris Buffer Antigen Retrieval (10×, pH10.0)	100mL/500mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4°C 保存,有效期 12 个月

【概述】

本产品是以 Tris 为基础的高碱性抗原修复储备液, 专为解决醛类固定导致的蛋白交联问题而设计。

机制: 通过高 pH 环境 (1.0×工作液 pH 约为 10.0) 和热效应, 彻底打破甲醛形成的“亚甲基桥”交联, 充分暴露由于固定而被遮蔽的抗原表位。

应用: 适用于石蜡切片、冰冻切片等样品在 IHC、IF 等实验前的抗原修复。

强效特性: 尤其适用于某些在常规 pH 6.0 (柠檬酸盐) 或 pH 9.0 (Tris-EDTA) 下修复信号微弱的特殊抗体。

【实验前准备】

1. **工作液配制 (1×):** 使用去离子水或蒸馏水将 10×储备液稀释 10 倍。

示例: 取 10 mL 10×母液加入 90 mL 去离子水中, 混合均匀即得 1×工作液。

2. **预热:** 建议在使用前将 1×工作液预热至 95-100°C, 以确保修复的一致性。

【操作方法】

1. 样本预处理

石蜡切片: 二甲苯 3 次, 每次 3-5min→无水乙醇 2 次, 每次 3-5min→95%乙醇 1 次, 3-5min→90%乙醇 1 次, 3-5min→75%乙醇 1 次, 3-5min→蒸馏水洗 2 次, 每次 3-5min, 确保切片彻底水化。

冰冻切片: 用免疫染色洗涤液 (如 PBS) 浸洗 5 min。

2. 热修复步骤 (核心步骤)

① 将预处理后的切片浸入已预热至 95-100°C 的 1×修复液中。

② **加热维持:** 持续加热 10-20 min (标准推荐时长为 15min)。

水浴锅：温度最均匀，适合对温度敏感的组织。

微波炉：加热速度快，但必须防止暴沸导致切片干涸或脱落。建议使用中低功率。

压力锅：修复强度最高，适合极难暴露的抗原，但需严格控制时间。

3. 冷却与后处理（防脱片关键）

① **自然冷却：**修复结束后，将容器取出，在室温下自然冷却 20–30 min 至室温。

警告：严禁直接放入冷水中骤冷，否则极易导致组织脱片。

② **洗涤：**用免疫染色洗涤液（如 PBS）洗涤 2–3 次，每次 3–5 min。

③ **后续实验：**直接进入封闭或内源性酶阻断步骤。

【注意事项】

1. **参数摸索：**最佳修复时间与组织类型、固定时长、目标蛋白丰度密切相关。建议初次实验设置 10/15/20 min 三个梯度。

2. **液体量充足：**加热过程中确保修复液完全覆盖组织。微波加热过程中若水分蒸发过多，应及时补充预热的蒸馏水。

3. **防止脱片：**pH 10.0 属于强碱性环境，对切片黏附力要求较高。建议使用防脱玻片（如多聚赖氨酸处理或带正电荷玻片）。

4. **安全防护：**本品 pH 值较高，具有一定的刺激性。操作时请佩戴实验服、乳胶手套。