

Tris-EDTA 抗原修复液 (10×, pH9.0) 使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8322	Tris-EDTA Buffer Antigen Retrieval (10×, pH9.0)	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-EDTA 为基础的高效抗原修复储备液 (10×), 专为石蜡切片、冰冻切片在免疫组化 (IHC) 或免疫荧光 (IF) 实验前的表位暴露而设计。

双重机制: 结合了高 pH (碱性环境) 的热效应与 EDTA 的螯合作用。它能有效打破醛类固定引起的蛋白交联, 同时螯合屏蔽抗原表位的金属离子, 协同增强修复效果。

应用范围: 广泛适用于多聚甲醛、甲醛或其他醛类固定的组织样本。

性能特点: 相比于柠檬酸钠 (pH 6.0), Tris-EDTA (pH 9.0) 通常能提供更强的染色强度, 是解决弱信号抗体、疑难抗原修复的首选方案。

【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. **最佳参数摸索**: 抗原修复受固定时长、组织厚度、抗体特性等多种因素影响。若信号过弱, 可适当延长修复时间 (至 20 min); 若出现背景过高, 可尝试缩短时间。

2. **EDTA 的特殊性**: 某些金属依赖型酶学实验或特定抗体可能受 EDTA 影响, 请根据抗体说明书选择。

3. **防止脱片**: pH 9.0 环境下, 组织较易从玻片脱落。建议使用高粘附性防脱玻片。

4. **冷却严禁骤冷**: 修复后的组织处于物理性质脆弱期, 突然的温差会导致组织结构受损或掉片。

5. **安全防护**: 操作时请按实验室规范佩戴实验服与一次性手套。