

Ready-to-use BFTTM 540 Tyramide 200×

传统免疫荧光多色 TSA 必备神器, 灵敏度提升 100 倍, 节省抗体 95%, 10 min
信号快速放大

产品货号: B41112

产品规格: 10 µL, 100 µL

储运条件: -20 °C 长期避光保存, 避免反复冻融, 冰袋运输

产品简介:

Ready-to-use BFTTM 540 Tyramide 200× 是一款基于酪胺信号放大(TSA)技术的即用型荧光检测试剂, 酪胺信号放大技术利用辣根过氧化物酶(HRP)催化酪胺底物在靶抗原附近沉积高密度标记物, 从而实现对低丰度靶标的超灵敏原位检测。该技术突破了传统方法的检测极限, 并显著降低了抗体用量。本产品的优势在于基于酪胺的信号放大技术能够提供极强的灵敏度、检测极微量的目的抗原。一方面, 可与常规染色方法结合进行多色成像; 另一方面, 能够通过连续进行多个酪胺反应, 对单一样本中的多种不同靶标进行多重标记。

酪胺信号放大技术是当前超灵敏原位检测领域的关键技术之一, 凭借超灵敏检测和高分辨率保留的优势已广泛应用。本产品可适配免疫荧光、免疫组化、酶联免疫吸附实验及原位杂交等多种检测, 既能与常规染色方法结合实现多色成像, 又可通过连续酪胺反应对单一样本中的多种靶标进行多重标记, 为复杂样本中低丰度蛋白或核酸的定位与分析提供有力工具。

注: 效能等同于 iFluor[®] 546 Tyramide(45103)。

注: 本文中 iFluor[®] 为 AAT Bioquest 的商标及注册商标。

应用范围: 多色荧光免疫组织化学原位杂交, 酶联免疫吸附实验, 神经科学稀有神经元标记, 肿瘤生物学低丰度癌标志物检测等

产品特点:

- **经济性:** 节省实验中所需的抗体用量 95% 以上;
- **高效省时:** 即用型设计, 10 min 内完成信号放大;
- **高灵敏度:** 可检测极低丰度靶标, 灵敏度提升 100 倍;
- **多重标记:** 允许在同一样本中对多种不同靶标进行连续的酪胺反应和多重标记, 为复杂样本的分析提供便利;
- **通用性:** 适用于免疫荧光、免疫组化、酶联免疫吸附实验及原位杂交等检测, 无需调整核心操作流程。

产品参数:

- Ex/Em: 516/548 nm;
- Molecular Weight: 943.19;

产品组分:

组分	20 T	200 T
Ready-to-use BFT TM 540 Tyramide 200×	10 µL	100 µL

注: 按 1 : 200 稀释, 每个样品使用 100 µL 染色液计算。

注意事项:

- 使用前, 务必对产品进行瞬时离心, 确保液体沉入管底后再开盖取用。



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probabilities Technology CO., LTD.

- 推荐Ready-to-use BFTM 540 Tyramide起始稀释比为1 : 200, 浓度过高易致信号过强或背景升高, 可以梯度测试 (从1 : 100至1 : 1000) 寻找最佳浓度。
- 进行同一样本多靶标标记时, 每一轮酪酰胺反应后, 进行HRP淬灭或抗体剥离后再进行下一轮。
- 建议使用5 µg/mL的HRP结合物, 降低浓度可能会显著减弱信号强度和灵敏度。
- TSA试剂盒相比于荧光二抗灵敏度更高。因此, 实验时使用较低的一抗可以降低非特异性结合带来的背景荧光, 我们建议梯度设置一抗浓度以找浓度到最佳浓度。此外, 我们建议设置阴性对照 (未与一抗孵育) 以评估背景荧光的干扰, 组织样本设置未染色对照 (不添加抗体或酪酰胺), 以确定组织自发荧光对背景的影响。
- 若做多色标记时, 依据抗原密度选择染料 (低密度抗原用强信号染料; 高密度抗原用较弱信号染料)。标记顺序可能影响结果, 需自行摸索优化。
- 荧光染料易受光照影响而淬灭, 请务必避光操作, 以保持染料稳定性。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明:

一、实验前准备

1. 试剂准备:

- 将试剂从储存条件 (如4 °C) 取出, 平衡至室温(15-25 °C)。
- 准备细胞培养基、PBS。

二、操作步骤

1. 样本准备:

(1) 细胞样品

准备一份不孵育一抗的阴性对照样本 (可选)。首先, 用 PBS 轻柔清洗细胞两次。随后, 加入适量 4%多聚甲醛(pH7.4) 溶液, 于 4 °C固定细胞 15 min, 固定后再用 PBS 清洗两次。接着, 使用 PBS 配制的 0.5% Triton X-100 溶液在室温下通透细胞 10 min, 通透完成后, 最后用 PBS 清洗细胞两次, 即可进行后续操作。

(2) 石蜡组织切片

首先, 将切片置于 60 °C的烘箱中 30 min。随后, 在通风橱中 (注: 二甲苯有毒易挥发), 于室温下用二甲苯浸泡切片 2 次, 每次 5 min 以彻底脱蜡。接着, 室温下将切片浸没于无水乙醇中漂洗 2 次, 每次 5 min。之后, 室温下依次浸没于梯度乙醇(95%、90%、80%、70%)中各漂洗 1 次, 每次 5 min。漂洗后, 室温下将切片浸入纯水漂洗 3 min, 再浸入 PBS 漂洗 3 min, 用滤纸小心吸干切片周围多余液体。用免疫组化笔沿组织边缘描绘轮廓以限定后续反应区域。进行抗原修复时, 将 0.1 M 柠檬酸盐缓冲液(pH6.0)微波加热至沸腾, 将处理好的切片完全浸没于缓冲液中, 维持微沸状态 10 min; 修复完成后取出切片, 室温下缓慢冷却 (注: 不同样本可能需选择其他修复方法)。最后, 用 PBS 清洗切片两次, 即可进行后续操作。

2. (可选) 内源性过氧化物酶灭活:

若需灭活, 加入足量的 3% Hydrogen Peroxide 覆盖样品, 室温孵育 60 min。淬灭样品的内源性过氧化物酶活性。

3. (可选) 内源性生物素阻断:

进行链霉亲和素/生物素检测时, 我们建议阻断内源性生物素以降低背景。

注: 使用标记BFTM染料的酪酰胺和HRP二抗的试剂盒可省略此步。

具体操作如下: 首先, 在室温下将样品与未标记的链霉亲和素溶液孵育15 min, 随后用生物素封闭清洗缓冲液室温洗涤样品3次, 每次5 min; 接着, 在室温下将样品与生物素溶液孵育30 min以封闭链霉亲和素上多余的生物素结合位点, 孵育完毕后再用生物素封闭清洗缓冲液洗涤样品3次, 每次5 min, 即可进行后续实验。

4. 免疫标记:

- (1) 首先, 用封闭缓冲液室温封闭样品 1 h。封闭后, 用封闭缓冲液将一抗稀释至适当的浓度, 将样品与一抗稀释液在室温孵育 1 h 或在 4 °C过夜 (注: 使用含 HRP-Streptavidin 的试剂盒时, 请选用生物素偶联的一抗)。随后, 室温下用 PBS 洗涤样品 3 次, 每次 5 min。



- (2) 洗涤后，在封闭缓冲液中将HRP-conjugated按1:200稀释，用此稀释液室温孵育样品1 h。接着，再次室温下用PBS洗涤3次，每次5 min。之后，制备酪酰胺染色液：用1× Tyramide Amplification Buffer将200× Tyramide Stock Solution按1:200稀释，每个样品需要100 μL染色液（注：染色液在室温下避光保存不超过24 h）。将样品与染色液室温避光孵育10 min。
- (3) 孵育完毕，室温下用PBS洗涤3次，每次5 min。最后，进行显微镜成像。组织切片需加盖玻片并封片后再成像。

三、结果判读

● 定性分析（显微镜）：

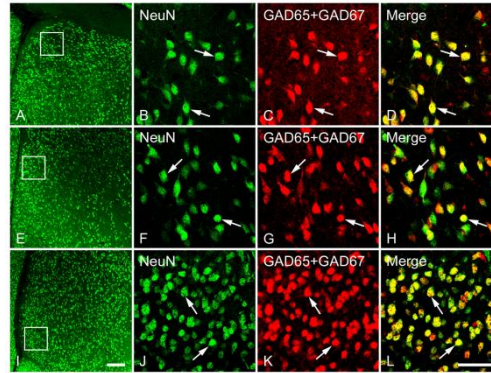


图 1.大鼠外侧隔核背侧亚区、中间亚区和腹侧亚区免疫组织化学标记图

- 正常放大后荧光信号：细胞内可见反应区域有特异性荧光信号；
- 背景干扰：若细胞外或背景荧光强，提示洗涤不充分或染料浓度过高。

注：图片引自参考文献《Characterization of GABAergic neurons in the mouse lateral septum: a double fluorescence in situ hybridization and immunohistochemical study using tyramide signal amplification》(doi: 10.1371/journal.pone.0073750)

常见疑问与解答：

- 问：Tyramide孵育时间能否延长？
答：不建议。标准孵育时间为室温避光 10 min。延长孵育可能导致非特异性沉积，增大背景干扰。
- 问：信号微弱或无信号可能的原因？
答：HRP 结合物浓度不足；一抗浓度过低或孵育时间不足（需梯度优化）；抗原修复不充分；酪酰胺工作液失效（避免反复冻融或过期）。
- 问：能否用于多重标记（同一张切片多个靶标）？
答：可以，但需严格进行 HRP 淬灭：第一轮酪酰胺反应灭活残留 HRP 活性，再进行下一轮的孵育。

