

PCNA Ready-To-Use IHC Kit

增殖细胞核抗原即用型免疫组化试剂盒

产品货号：IHC0123

样本类型：FFPE 组织切片

产品规格：50T （包含三个对照切片）

保存条件：见下表。有效期 6 个月。

产品组分及规格

编号	组分	规格	浓度	储存
1	PBS 缓冲液（干粉）	2 L×2	20x	室温
2	抗原修复缓冲液	20 ml	100x	2-8℃
3	内源性过氧化物酶阻断剂	3 ml	RTU	2-8℃
4	封闭工作液	3 ml	RTU	2-8℃
5	一抗（PCNA Mouse mAb）	6 ml	RTU	2-8℃
6	二抗（HRP-Goat anti-Mouse IgG pAb）	6 ml	RTU	2-8℃
7	DAB kit（20×）显色液	0.3 ml	RTU	-20℃
8	DAB kit（20×）稀释液	0.3 ml	RTU	-20℃
9	复染试剂	5 ml	RTU	室温
10	封片剂	5 ml	RTU	室温
11	对照切片（大鼠结肠，小鼠结肠，人结肠）	3 张	RTU	室温
12	说明书	1 份		

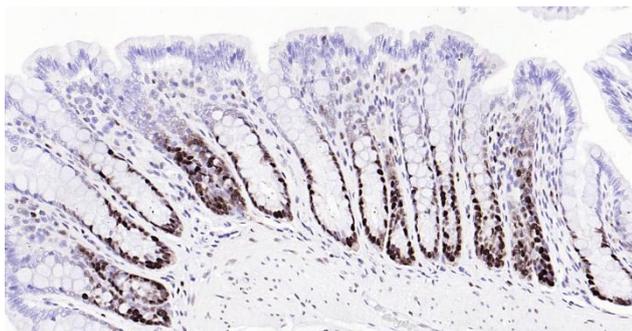
背景

PCNA (polymerase delta auxiliary protein) is essential for DNA replication and is involved in DNA excision and mismatch repair pathways. PCNA binds to the CDK inhibitor p21, the structure-specific endonucleases Fen1 and XPG, and DNA cytosine 5-methyltransferase (MCMT). PCNA is a potentially useful marker of cells with proliferative potential and for identifying the proliferation status of tumor tissue (i.e. relevant to prognosis). PCNA is a marker for cells in early G1 phase and S phase of the cell cycle. PCNA is found in the nucleus and is a cofactor of DNA polymerase delta, and acts as a homotrimer and helps increase the processing of leading strand synthesis during DNA replication. In response to DNA damage, PCNA is ubiquitinated and is involved in the RAD6-dependent DNA repair pathway. Two transcript variants encoding the same protein have been found for PCNA. Pseudogenes of PCNA have been described on chromosome 4 and on the X chromosome.

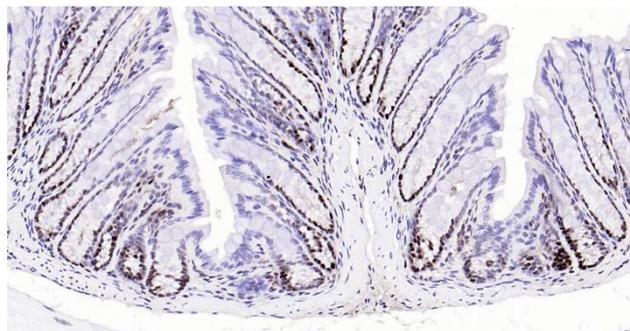
别名

Cyclin; DNA polymerase delta auxiliary protein; HGCN8729; MGC8367; Mutagen-sensitive 209 protein; Pcn/cyclin; PCNAR; Polymerase delta accessory protein; Proliferating Cell Nuclear Antigen.

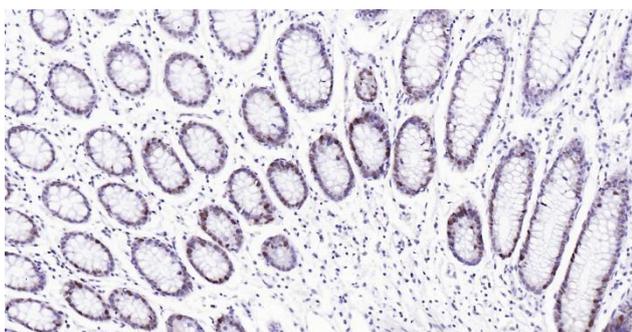
验证数据



使用 IHC0123 (增殖细胞核抗原 IHC 试剂盒) 对石蜡包埋的大鼠结肠切片进行免疫组化分析。



使用 IHC0123 (增殖细胞核抗原 IHC 试剂盒) 对石蜡包埋的小鼠结肠组织切片进行免疫组化分析。



使用 IHC0123 (增殖细胞核抗原 IHC 试剂盒) 对石蜡包埋的人结肠组织切片进行免疫组化分析。

石蜡包埋组织的免疫组织化学方案

1. 脱蜡水化

石蜡切片置于新鲜二甲苯中浸泡脱蜡 3 次, 每次 15 min; 依次置于不同浓度 (100%、95%、90%、80%、70%) 乙醇浸泡各 5 min, 再置于蒸馏水洗涤 5 min, 重复 3 次。

2. 抗原修复

沸水浴修复: 将 100×**抗原修复缓冲液 (试剂 2)** 用蒸馏水稀释成 1×抗原修复缓冲液, 放入修复盒中并提前加热至 95-100℃ (注意盖好以防液体蒸发), 然后将切片放入修复盒中, 在沸水浴环境中保持外沸状态 15 min, 室温自然冷却; 用 **PBS 缓冲液 (试剂 1)** (将干粉溶解在 2L 蒸馏水中) 清洗 5 min, 重复 3 次。

3. 阻断内源性过氧化物酶

用吸水纸吸去玻片上多余的液体, 用免疫组化笔在组织周围画圈, 加入 2-4 滴**内源性过氧化物酶阻断剂 (试剂 3)**, 室温下置于湿盒中孵育 15 min, 用 PBS 洗涤 5 min, 重复 3 次。

4. 血清封闭

用吸水纸吸去玻片上多余的液体, 加入 2-4 滴**封闭工作液 (试剂 4)**, 置于湿盒内 37℃ 封闭 20 min, 以减少非特异性染色。

5. 一抗孵育

用吸水纸吸去玻片上多余的液体, 加入 2-4 滴 **PCNA 鼠单抗工作液 (试剂 5)**, 置于湿盒中, 4℃ 孵育过夜或 37℃ 孵育 1-2 h。

6. 复温

4℃ 孵育过夜后, 室温下复温 15 min (若在室温下孵育一抗, 则直接进入下一步清洗); 用 PBS 洗涤 5 min, 重复 3 次。

2 / 3

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.

7. 二抗孵育

用吸水纸吸玻片上多余的液体，加入 2-4 滴 **HRP 标记羊抗鼠 IgG 工作液（试剂 6）**，置于湿盒中，37℃孵育 1-2 h；用 PBS 洗涤 5 min，重复 3 次。

8. 显色

用吸水纸吸去玻片上多余的液体，在每张切片上滴加约 50 μL 新配制的 **DAB 工作液（试剂 7：试剂 8：PBS=1：1：18）**，作用 3-5 min。显微镜下观察结果，达到合适的显色强度后，用蒸馏水冲洗切片以终止反应，用蒸馏水冲洗 5 min，重复 3 次。

9. 复染

滴加适量**复染试剂（试剂 9）**复染 3-5 min，蒸馏水冲洗 5 min，滴加盐酸酒精分化约 30 s，蒸馏水洗涤 5 min，重复 2 次。

10. 脱水封片

将玻片依次置于不同浓度（70%、80%、90%、95%、100%）乙醇，各 5 min；然后置于新鲜二甲苯中浸泡脱蜡 3 次，每次 15 min。用吸水纸吸去多余的二甲苯，滴加适量**封片剂（试剂 10）**在组织上，将盖玻片盖在组织上，避免产生气泡。

注意事项

1. 建议检测时进行阴性及阳性对照，以提高实验的可靠性。
2. 本品中的配套试剂，请不要用其他生产商产品替换使用。
3. DAB 为致癌物质，请采取必要的防范措施。
4. PBS 洗涤液（试剂 1）配制后在 4℃可保存一周；抗原修复液（试剂 2）及显色剂（试剂 7 和 8）的工作液需每次实验时现用现配。
- *5. 发表论文时引用本产品的写作建议 "IHC0123, Bioss Antibodies"。引用示例: "Tissue sections using PCNA IHC Kit (IHC0123, Bioss Antibodies) were stained for PCNA according to the manufacturer's instructions."