

Tyramide Lumo 酪胺信号放大试剂盒

Table 1 Contents and storage

Component	Single Fluorescence (#TLK0301)	3-Plex (#TLK0601)	5-Plex (#TLK0603)	Concentration	Storage
HRP Blocking Buffer	10 mL	20 mL	40 mL	1×	2 to 8 °C
Antibody Dilution & Blocking Buffer	10 mL	20 mL	40 mL	1×	2 to 8 °C
Tyramide Lumo Buffer	10 mL	20 mL	40 mL	1×	2 to 8 °C
HRP polymer-conjugated Secondary Antibody (Anti-Mouse/Rabbit)	5 mL	10 mL	20 mL	N/A	2 to 8 °C
Tyramide Dye	50 µL per tube (100 slides) or 100 µL per tube (200 slides)			200×	2 to 8 °C for 6 months; -20 °C up to 12 months.
DAPI	10 mL			1×	2 to 8 °C

TSA 技术简介

酪胺信号放大系统 (Tyramide Signal Amplification, TSA) 是一种用于检测低丰度靶标的信号放大技术。TSA 技术可将检测灵敏度提高 50-100 倍。MSBIO 将自研高性能荧光染料 MaxFluor 和 Max-Sulf 系列与 TSA 技术结合, 推出高灵敏度的酪胺信号放大系统 Tyramide Lumo Kit, 帮助您实现对低丰度靶标的可靠检测与成像。

基本原理

偶联有辣根过氧化物酶 (HRP) 的二抗与一抗结合后, 将邻近区域的荧光染料分子的酪胺基团活化; 活化后的染料分子可与靶标分子及靶标分子周围的芳香类氨基酸残基 (如酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸等) 共价结合并聚集沉积, 在靶标分子处形成高密度荧光信号区域, 从而将检测信号放大, 实现对低丰度靶标分子的检测与成像。因酪胺染料与靶标分子以共价键结合, 样本可在抗原修复 (或再次通透) 后进行多重染色, 而不受抗体种属限制。TSA 技术可在免疫组织化学 (IHC)、免疫细胞化学 (ICC)、荧光原位杂交 (FISH) 等多个应用场景中实现荧光信号放大。

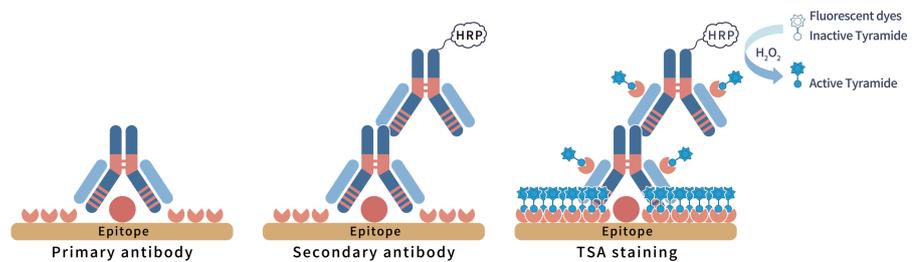


Figure 1 | Tyramide Lumo 酪胺信号放大原理

开始之前

请准备下列试剂盒中未提供的试剂：

Table 2 Materials not provided		
磷酸盐缓冲液 (PBS)	二甲苯	无水乙醇
柠檬酸钠缓冲液 (pH 6.0)	多聚甲醛	甲醇
Tris-EDTA 缓冲液 (pH 9.0)	Triton X-100	一抗
抗荧光淬灭封片剂		

配制试剂

酪胺染料

Tyramide Lumo Kit 系列提供 200× 和 1× 两种不同浓度的酪胺染料。200× 酪胺染料需使用 Tyramide Lumo Buffer 按 1:50–1:200 比例稀释；对于丰度较低的靶标，建议适当提高染料使用浓度。对于干粉酪胺染料，每管加入 100 μL DMSO 彻底溶解后，即为 200× 酪胺染料溶液。每张细胞爬片或组织切片，大约需要 50–100 μL 稀释后的酪胺染料。

Material	Number of coverslips (24 × 24 mm ²)				
	5	10	20	50	100
Tyramide Lumo Buffer	500 μL	1 mL	2 mL	5 mL	10 mL
Tyramide Dye (200×)	2.5 μL	5 μL	10 μL	25 μL	50 μL

准备一抗

根据抗体生产商提供的使用说明，选择合适的稀释比例，使用 Antibody Dilution & Blocking Buffer 进行稀释。每张细胞爬片或组织切片，需使用 50–100 μL 稀释后的一抗。

Material	Dilution ratio				
	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2000
Antibody Dilution & Blocking Buffer	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Primary Antibody	20 μL	10 μL	2 μL	1 μL	0.5 μL

实验方法

准备细胞爬片

1. **固定** 使用4°C预冷的甲醇或4%多聚甲醛在4°C条件下固定细胞5-10分钟；然后使用PBS洗去固定液，洗涤时间约5分钟；重复洗涤两次。

2. **通透** 使用0.3%-0.5% Triton X-100通透细胞5-10分钟；然后使用PBS润洗细胞5分钟；重复润洗两次。

准备石蜡包埋组织切片

3. **脱蜡** 使用100%二甲苯脱蜡约10分钟；重复脱蜡一次。

4. **水合** 使用梯度浓度乙醇溶液进行水合；将组织切片浸入100%乙醇，孵育10分钟，重复一次；再依次浸入95%、85%、70%、50%乙醇溶液中，室温孵育5分钟；最后使用ddH₂O润洗组织切片5分钟。

5. **抗原修复** 将组织切片浸入柠檬酸钠(pH 6.0)或Tris-EDTA(pH 9.0)抗原修复液，微波炉最大功率加热至沸腾，然后调至20%功率继续加热15分钟。冷却至室温后，取出组织切片，依次使用ddH₂O和PBS润洗5分钟；PBS润洗重复两次。

淬灭过氧化物酶(选做)

6. 如需淬灭内源性过氧化物酶，滴加足量HRP Blocking Buffer覆盖整个样本，室温孵育10-20分钟；孵育完成后，使用PBS润洗细胞或组织。

封闭非特异性结合位点

7. 在样本上滴加2-3滴(约100-150 μL) Antibody Dilution & Blocking Buffer, 室温孵育30分钟。

过氧化物酶标记

8. 使用兔源或鼠源一抗标记细胞或组织样本，室温孵育60分钟，或2-8°C条件下过夜孵育。室温下，使用PBS润洗细胞或组织5-10分钟，重复润洗2次。

9. 在样本上滴加2-3滴(约100-150 μL) HRP polymer-conjugated Secondary Antibody (Anti-Mouse/Rabbit), 室温孵育40-60分钟。室温下，使用PBS润洗细胞或组织5-10分钟，重复润洗2次。

TSA 染色

10. 在样本上加入100 μL 1×酪胺染料，室温孵育5-15分钟。染料终浓度和染色时间，可根据实际靶标分子表达量进行调整。

多重染色

11. 染色完成后，可根据需要选择其他光谱范围合适的酪胺染料进行多重染色。使用0.3%-0.5% Triton X-100对细胞样本再次进行通透，或对组织样本再次进行抗原修复，去除前一次染色所使用的抗体后，按照第8至10步进行染色。

DAPI 染色(选做)

12. 若需要进行细胞核染色，滴加2-3滴(约100-150 μL) DAPI, 室温下避光孵育10分钟；孵育完成后，使用PBS润洗细胞5分钟，重复润洗2次。

封片

13. 按照使用说明，使用抗荧光淬灭封片剂进行封片，注意避免产生气泡。

成像检测

14. 使用荧光显微镜或其他荧光成像设备对样本进行成像和检测。

Appendix I: Signal optimization

优化抗体稀释比例、酪胺染料浓度，以及孵育时间等实验条件，可获得更好的实验效果。

一抗用量 一抗用量过多或过少，都会影响染色效果。建议测试多个不同的一抗稀释比例，并设置阴性对照（无一抗），对一抗用量进行优化。

酪胺染料稀释比例 200× Tyramide Dye 可按照 1:50–1:200 比例进行稀释。高表达量的靶标，可使用较低浓度的酪胺染料；低表达量的靶标，可适当提高酪胺染料浓度。

染色时间 优化酪胺染料染色时间，可获得更高分辨率、更高特异性的结果。可对阳性和阴性对照样本测试 2.5、5、7.5、10 和 15 分钟等不同的染色时间，进行优化。若荧光信号较弱，应延长染色时间；若荧光信号模糊或阴性对照出现非特异性荧光信号，则应缩短染色时间。

Appendix II: Troubleshooting

Issue	Solution
信号强度过高	缩短酪胺染料染色时间。
	减少一抗用量或缩短一抗孵育时间。
信号强度过低	延长酪胺染料染色时间。
	增加一抗用量或延长孵育时间。
	更换抗原修复液以增强抗原表位的暴露。
背景荧光信号过高	更换细胞固定液。
	延长内源性过氧化物酶淬灭时间。
	延长非特异性位点封闭时间。
	增加细胞或组织润洗次数和时间，或换用 PBST 润洗。
	减少二抗用量或缩短二抗孵育时间。

Appendix III: Order information

Table 6 Signal Fluorescence 单色荧光系列					
Series	Product	Cat#	Size	Ex/Em (nm)	Color
MaxFluor Tyramide Lumo Kit (1x) MF 酪胺信号放大试剂盒 (1x)	MaxFluor 485 Tyramide Lumo Kit	TLK0101	50 slides	439/485	
	MaxFluor 525 Tyramide Lumo Kit	TLK0102	50 slides	490/525	
	MaxFluor 555 Tyramide Lumo Kit	TLK0103	50 slides	534/555	
	MaxFluor 605 Tyramide Lumo Kit	TLK0104	50 slides	578/605	
	MaxFluor 675 Tyramide Lumo Kit	TLK0105	50 slides	650/675	
	MaxFluor 705 Tyramide Lumo Kit	TLK0106	50 slides	679/705	
	MaxFluor 715 Tyramide Lumo Kit	TLK0107	50 slides	691/715	
MaxSulf Tyramide Lumo Kit (1x) MS 酪胺信号放大试剂盒 (1x)	MaxSulf 565 Tyramide Lumo Kit	TLK0201	50 slides	554/565	
	MaxSulf 665 Tyramide Lumo Kit	TLK0202	50 slides	647/665	
	MaxSulf 775 Tyramide Lumo Kit	TLK0203	50 slides	756/775	
MaxFluor Tyramide Lumo (200x) MF 酪胺信号放大试剂盒 (200x)	MaxFluor 485 Tyramide Lumo Kit	TLK0301	100/200 slides	439/485	
	MaxFluor 525 Tyramide Lumo Kit	TLK0302	100/200 slides	490/525	
	MaxFluor 555 Tyramide Lumo Kit	TLK0303	100/200 slides	534/555	
	MaxFluor 605 Tyramide Lumo Kit	TLK0304	100/200 slides	578/605	
	MaxFluor 675 Tyramide Lumo Kit	TLK0305	100/200 slides	650/675	
	MaxFluor 705 Tyramide Lumo Kit	TLK0306	100/200 slides	679/705	
	MaxFluor 715 Tyramide Lumo Kit	TLK0307	100/200 slides	691/715	
MaxSulf Tyramide Lumo Kit (200x) MS 酪胺信号放大试剂盒 (200x)	MaxSulf 565 Tyramide Lumo Kit	TLK0401	100/200 slides	554/565	
	MaxSulf 665 Tyramide Lumo Kit	TLK0402	100/200 slides	647/665	
	MaxSulf 775 Tyramide Lumo Kit	TLK0403	100/200 slides	756/775	

Table 7 Multiplex Fluorescence 多重荧光系列					
Series	Product	Cat#	Size	Color	
Tyramide Lumo Kit (1x) 酪胺信号放大试剂盒 (1x)	3-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0501	50 slides		
	4-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0502	50 slides		
	5-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0503	50 slides		
	6-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0504	50 slides		
	7-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0505	50 slides		
Tyramide Lumo Kit (200x) 酪胺信号放大试剂盒 (200x)	3-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0601	100/200 slides		
	4-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0602	100/200 slides		
	5-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0603	100/200 slides		
	6-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0604	100/200 slides		
	7-Plex Tyramide Lumo Kit	TLK0605	100/200 slides		

Table 8 Tyramide Dye 酪胺染料系列					
Series	Product	Cat#	Size	Ex/Em (nm)	Color
MaxFluor Tyramide (Lyophilized) MF 酪胺染料 (干粉)	MaxFluor 485 Tyramide	FLD0101	200 slides	439/485	
	MaxFluor 525 Tyramide	FLD0102	200 slides	490/525	
	MaxFluor 555 Tyramide	FLD0103	200 slides	534/555	
	MaxFluor 605 Tyramide	FLD0104	200 slides	578/605	
	MaxFluor 675 Tyramide	FLD0105	200 slides	650/675	
	MaxFluor 705 Tyramide	FLD0106	200 slides	679/705	
	MaxFluor 715 Tyramide	FLD0107	200 slides	691/715	
MaxSulf Tyramide (Lyophilized) MS 酪胺染料 (干粉)	MaxSulf 565 Tyramide	FLD0201	200 slides	554/565	
	MaxSulf 665 Tyramide	FLD0202	200 slides	647/665	
	MaxSulf 775 Tyramide	FLD0203	200 slides	756/775	

更多产品信息访问: www.msbio.com