

## DAB 染色试剂盒使用说明书

### 简介

二氨基联苯胺 (DAB) 是辣根过氧化物酶最敏感、最常用的显色底物, 反应产物为不溶于水、二甲苯和醇的棕色沉淀物。本产品采用特殊配方, 灵敏度高, 背景低, 储存稳定, 使用方便。适合于蛋白印迹、免疫组织化学和免疫细胞化学、斑点印迹和生物芯片等的染色和显色反应。

编号: C-0010

### 包装规格:

组分	规格 1	规格 2
DAB 显色液 A (20×)	0.5mL	1mL
DAB 显色液 B (20×)	0.5mL	1mL

### 用法:

1. 临用前配制 10 mL 1×DAB 显色工作液: 将 0.5 mL 20× DAB 显色液 A 加入 9 mL 1×PBS 中并涡旋混匀。向 DAB / PBS 混合物中加入 0.5 mL 20×DAB 显色液 B 涡旋混合均匀。可以根据需要按比例缩放体积。注意: 不要使用含有叠氮化钠的缓冲液, 叠氮化钠是一种 HRP 抑制剂。
2. 在样品的最后一次洗涤完毕后, 去除洗涤液, 加入足够的 DAB 显色工作液, 确保能充分覆盖样品。室温避光孵育 3-30 分钟或更长时间, 直至显色达到预期深浅。免疫印迹实验, 应保证样品在一个足够多的染色液中且能被自由晃动。
3. 去除 DAB 染色工作液, 用 PBS 冲洗样品几次以中止显色反应。对于用显微镜观察的细胞或组织样品, 可复染样品 (可选) 并安装在水性封固介质中。或者, 可以将样品脱水并安装在有机封固剂中。免疫印迹实验, 可将样品用水冲洗, 风干, 然后在室温下储存。

### 储存与运输:

-20°C 避光密闭保存, 一年有效。避免反复冻融。

2~8°C 运输, 在途时间 5 天对试剂无影响。

### 注意事项

1. DAB 对人体有害, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
2. 显色工作液应现用现配, 新鲜配制的工作液应为无色或浅棕色, 如颜色过深, 请勿使用。
3. 显色时间严格控制, 根据情况调整, 以免显色过度。固相膜显色数小时后即会褪色, 不能永久存在。
4. 请将沾有 DAB 显色液 A 的容器等放在含有 3%  $\text{KMnO}_4$ , 2%  $\text{NaHCO}_3$  的溶液浸泡 3h, 以减少污染。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 常见问题与分析

1. 背景显色太深。
  - a. 在免疫组化时如果背景显色太深，一方面需考虑使用适当的封闭液进行封闭，例如选购适当的封闭液或使用和一抗相同来源的血清(10%)进行封闭。另一方面，请注意选购经过适当吸附的二抗，以减少二抗的非特异性吸附。
  - b. 在免疫组化时如果背景显色太深，需注意灭活内源性过氧化氢酶。
  - c. 可以考虑缩短显色时间，或降低二抗浓度。
  - d. 选择适当强度的洗涤液，或延长洗涤时间。
2. 没有显色或显色太弱。
  - a. 可以考虑适当提高一抗或二抗的浓度。检测二抗效果，滴一滴稀释二抗在膜上，检测二抗是否可以被正常显色。
  - b. 可以考虑使用更加灵敏的放大检测体系，例如使用生物素检测体系。
  - c. 可以适当延长显色时间，另外确定抗原修复是否对于使用的一抗是必需的。