

DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒

产品简介

DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒(DAB Horseradish Peroxidase Color Development Kit)是一种依据辣根过氧化物酶(HRP)结合显色,用于免疫组化显色、原位杂交显色或 Western、Southern、Northern、EMSA 等膜显色的试剂盒。DAB 即 3,3N-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride, 是辣根过氧化物酶的常用底物,在辣根过氧化物酶的催化下,DAB 会产生棕色沉淀,该棕色沉淀不溶于水和乙醇,因此在 DAB 显色后,还可以使用溶于乙醇的染料进行后续染色。

DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒可以用于细胞或组织在免疫组化或原位杂交时结合的辣根过氧化物酶显色,也可用于 Western 等结合有辣根过氧化物酶的膜的显色检测以及细胞或组织内源性的辣根过氧化物酶显色。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS052W0 2×50ml	Storage
试剂(A): DAB 显色液	50ml	-20°C 避光
试剂(B): DAB buffer	50ml	4°C 避光
试剂(C): DAB 氧化剂	100μl	4°C 避光
使用说明书	1 份	

自备材料

- 1、洗涤液
- 2、蒸馏水

操作步骤(仅供参考)

- 1、常规组织切片、细胞样品、膜与辣根过氧化物酶标记的抗体或其它形式的探针孵育后,用适当洗涤液洗涤 3~5 次,每次 3~5min。对于检测内源性辣根过氧化物酶的组织或细胞样品,在适当固定后也可用洗涤液洗涤 3~5 次,每次 3~5min。
- 2、按试剂(A):试剂(B):试剂(C)=5000:5000:3 比例混合,即为 DAB 显色工作液,即配即用。
- 3、洗涤组织,去除洗涤液,加入适量 DAB 显色工作液,确保覆盖样品。
- 4、室温避光孵育 30min 或更长时间,直至显色至预期深浅。
- 5、去除 DAB 显色工作液,用蒸馏水清洗 1~2 次即可终止显色反应。
- 6、对组织切片或细胞样品,反应终止后如有必要可用中性红染色,便于观察;对于膜染色,反应终止后可室温晾干避光保存。

注意事项

- 1、该试剂盒给予的 DAB 氧化剂多于实际使用量，请按比例使用。
- 2、DAB 氧化剂易挥发，请注意密闭保存，以免效率下降，一旦开封请尽快使用。
- 3、DAB 氧化剂有腐蚀性，请勿直接接触于人皮肤、毛发等。
- 4、试剂(A)、试剂(B)避免反复冻融，以免显色效率下降。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题及可能原因

1、背景显色太深

- ①在免疫组化时如果背景显色太深，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。也应请注意选购经过适当吸附的二抗，以减小二抗的非特异性吸附。
- ②在进行含内源性过氧化氢酶的免疫组化时，如果背景显色太深，需注意灭活内源性过氧化氢酶。可以在 4 倍体积甲醇中加入 1 倍体积 3%过氧化氢，混匀后用于内源性过氧化氢酶的灭活。
- ③可以考虑缩短显色时间，或降低二抗浓度。
- ④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

- ①适当提高一抗或二抗的浓度；检测二抗效果，滴 1 滴稀释二抗在膜上，检测二抗是否可以被正常显色。
- ②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。
- ③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。

有效期：12 个月。低温运输，按要求保存。