

DAB 显色试剂盒说明书

【产品名称】

通用名称: DAB 显色试剂盒

【产品编号】

ZLI-9017 ZLI-9018 ZLI-9019

【包装规格】

ZLI-9017 (1mL) ZLI-9018 (3mL) ZLI-9019 (10mL)

【预期用途】

主要用于免疫组织化学染色的显色。

【检验原理】

辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗鼠/兔 IgG 聚合物与结合在组织片上的一抗反应形成免疫复合物, 聚合物上的 HRP 催化底物 H_2O_2 与 DAB 反应, 从而在显微镜下显示出组织片中的特定抗原的位点。

【主要组成成分】

货号	试剂 1	试剂 2	试剂配制专用瓶
	浓缩 DAB 溶液 (20×)	DAB 底物液	
ZLI-9017	1mL	20mL	1
ZLI-9018	3mL	60mL	1
ZLI-9019	10mL	100mL×2	2

本产品未提供如下试剂和耗材: 二甲苯、乙醇 (无水、95%、75%)、去离子水、中性树脂、一抗、质控组织片、苏木素染色液、PBS 缓冲液、修复液等。

【储存条件及有效期】

2~8°C 避光保存, 有效期 18 个月。采用泡沫箱加冰袋密封的运输方式, 时间不大于 7 天, 开箱温度不超过 30°C, 产品性能无影响。

使用时即拿即放, 单支试剂使用后应立即放回冰箱, 开封后试剂有效期 6 个月; 避光保存, 现配现用。

【适用平台】

手工操作与免疫组化染色机的 DAB 显色步骤。

【样本要求】

样本应及时固定, 避免抗原丢失。

【检验方法】

1. 检验所需仪器和耗材: 移液器、恒温箱、修复仪、免疫组化笔、计时器、孵育盒、染色架、盖玻片、光学显微镜、洗瓶。试剂准备: 显色液需要在使用前配制。
2. 试剂准备: 内源性过氧化物酶阻断剂、免疫组织化学检测用一抗和二抗、PBS 缓冲液。
3. 操作程序:
 - a) 脱蜡和水化
石蜡切片置于新鲜二甲苯中, 浸泡 10 分钟×3 次; 去除多余的液体后, 置于无水乙醇中, 浸泡 3 分钟×3 次; 去除多余的液体后, 置于 95%乙醇中, 浸泡 3 分钟×2 次; 去除多余的液体后, 置于 75%乙醇中, 浸泡 3 分钟×2 次; 蒸馏水冲洗 1 分钟, 置于 PBS 缓冲液中。
 - b) 抗原修复, 参见一抗说明书。
 - c) 阻断内源性过氧化物酶
加入适量的内源性过氧化物酶阻断剂, 室温孵育 10 分钟; PBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
 - d) 滴加一抗
根据组织大小, 滴加 100μL 或适量的一抗, 37°C 孵育 60 分钟或 2~8°C 过夜; PBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
 - e) 滴加酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物
滴加 100μL 或适量的酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物, 37°C 孵育 20 分钟; PBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
 - f) DAB 显色
DAB 显色液需要在使用前配制。配制方法: 在试剂配制专用瓶中依次加入 DAB 底物液 1mL (试剂 2), 浓缩 DAB 溶液 50μL (试剂 1), 混匀。配置好的 DAB 显色液 2~8°C 避光存放, 现配现用。
加入适量新鲜配制的 DAB 显色液, 室温孵育 5~10 分钟。
 - g) 复染
自来水冲洗, 苏木素染色液孵育 30~60 秒; 分化、冲洗返蓝。
 - h) 酒精脱水、二甲苯透明、中性树脂胶封片。
4. 结果判定, 染色结果在光学显微镜下观察并进行判读。

【阳性判断值】

阳性: 检测组织目标细胞的目的抗原可观察到棕黄色显色。

阴性: 检测组织目标细胞的目的抗原未观察到棕黄色显色。

【产品性能指标】

1. 装量: 试剂盒各组分溶液装量应不少于标示装量。
2. 符合性: 取符合性组织片 (包括阳性组织对照和阴性组织对照), 经相应的免疫组化实验后, 阳性着色定位准确, 且无背景染色; 同时, 空白对照和阴性对照染色结果为阴性。

3. 批内重复性: 取同一批次的试剂盒, 检测组织片 3 片, 染色强度和定位无明显差异。

【注意事项】

1. 应用适当的防护措施, 以避免试剂同皮肤和眼睛接触。
2. 染色液中的 DAB 底物液为致癌物质, 操作中应采用合理的防护措施。
3. 若将本染色液中的组分与其他公司的产品混合使用, 在染色过程中可能出现异常情况。
4. 超过有效期的试剂活性可能降低, 因此不得使用过期的试剂盒。
5. 脱蜡不彻底, 容易影响染色效果, 建议免疫组化切片脱蜡与常规 HE 脱蜡分开。
6. 为防止可能出现的假阳性、假阴性结果, 在实验过程中需设置阳性与阴性对照。
7. 实验中滴加试剂时, 过多的 PBS 缓冲液会导致试剂被稀释, 将引起染色强度变弱, 因此, 滴加试剂前应除去多余的缓冲液。
8. 使用中所产生的各种废弃物都应按《医疗废物管理条例》处理。

【参考文献】

- [1] Dabbs David J. 诊断免疫组织化学 (M). 北京: 北京大学医学出版社, 2008.9.
- [2] 张素娟. 介绍一种新的免疫组化 SP 方法. 第三次广东省病理技术学术会议. 1993:41.
- [3] 任占平. 应用 SP 免疫组化染色法的体会. 诊断病理学杂志. 1994.1(3):176.
- [4] Sabattini E, Bisgaard K, Ascani S, et al. The EnVision++ system: a new immunohistochemical method for diagnostics and research. Critical comparison with the APAAP, ChemMate, CSA, LABC, and SABC techniques. J Clin Pathol 1998;51:506-11.
- [5] Bobrow MN, Harris TD, Shaughnessy KJ, et al. Catalyzed reporter deposition, a novel method of signal amplification application to immunoassays. J Immunol Methods 1989;125:279-285.
- [6] Adams JC. Biotin amplification of biotin and horseradish peroxidase signals in histochemical stains. J Histochem Cytochem 1992;40:1457-63.
- [7] Merz H, Malisius R, Mann-Weiler S, et al. Methods in laboratory investigation Immuno-Max: a maximized immunohistochemical method for the retrieval and enhancement of hidden antigens. Lab Invest 1995;73:149-56.
- [8] Ed Harlow, David Lane. 抗体技术实验指南 (M). 北京: 科学出版社, 2002:79-80,105.

【基本信息】

售后服务单位名称: 北京中杉金桥生物技术有限公司

电 话: 010-63470385 400-810-9781 技术支持: 010-63634171

网 址: <http://www.zsbio.com> E-mail: sales@zsbio.com

本产品仅用于科学研究, 不用于临床诊断