

# DAB Horseradish Peroxidase Color Development Kit

## DAB辣根过氧化物酶显色试剂盒

### 产品介绍

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。核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。

本显色液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。同时也可以用于细胞或组织内源性的辣根过氧化物酶显色。

### 产品规格

名称	AWB0175a 50ml
试剂(A): 显色剂	2.5 ml
试剂(B): 底物缓冲液	50 ml

### 保存条件

4℃，避光

### 自备材料

- 1、洗涤液
- 2、蒸馏水

### 使用方法

- 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（A）:试剂（B）=1:20的比例混合，即为DAB染色工作液，即配即用。
- 3、洗涤过组织后，去除洗涤液，加入适量DAB染色工作液，确保覆盖样品。
- 4、室温避光孵育0.5min~5min，直至显色至预期深浅。
- 5、去除DAB染色工作液，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液染色，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、DAB是致癌物，请注意适当防护。
- 2、试剂（A）、试剂（B）避免反复冻融。
- 3、为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。

4、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。

## 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体积甲醇中加入1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。
- 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。