



# 鼠抗体免疫组化试剂盒说明书

## (DAB, MOUSE) Cat#:ENS003

产品介绍	保存温度	规格
适用于免疫组化方法的石蜡包埋、冰冻切片、培养细胞涂片及血液标本	2°C ~ 8°C	3ml(60 片)/6ml (120 片) /15ml(300 片)

### 试剂盒组成

1. 试剂 A: 封闭液, 为 10% 山羊血清。1 瓶, 即用型; 3mL(60 张片)或 6mL (120 张片)或 15mL(300 张片);
2. 试剂 B: 抗小鼠 IgG 生物素化二抗。1 瓶, 即用型; 3mL(60 张片)或 6mL (120 张片)或 15mL(300 张片);
3. 试剂 C: 链亲和素标记 HRP。1 瓶, 即用型 ;3mL(60 张片)或 6mL (120 张片)或 15mL(300 张片);
4. 试剂 D: 浓缩 DAB 显色液。一支, 108 $\mu$ L (60 张片)或 216 $\mu$ L (120 张片)或 540 $\mu$ L (300 张片);
5. 试剂 E: DAB 底物缓冲液。一瓶, 3.6mL (60 张片)或 7.2mL (120 张片)或 18mL(300 张片);
6. 7mL 黑色滴瓶 (空), 用于稀释浓缩 DAB 用。如果要重复使用, 一定要及时洗干净! 避免污染下次试剂。

### 所需试剂及材料 (本试剂盒未提供, 需要用户自己准备)

1. 二甲苯、乙醇、无水甲醇
2. 蒸馏水或去离子水
3. 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
4. 10 mM PBS, pH 7.4 或 50mM TBS, pH 7.8
5. 一抗 (兔抗体)
6. 苏木精染液
7. 封片胶
8. 显微镜

### 推荐染色步骤: (以石蜡切片为例)

#### 1. 标本制备

石蜡切片用二甲苯常规脱蜡、入水、抗原修复 (可根据一抗说明书推荐方法进行操作)。染色前用 PBS 浸泡组织或细胞涂片 10 分钟。(注意: 从此步骤起, 严禁标本或组织切片干燥)

#### 2. 染色

- (1) 石蜡切片放入 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-甲醇液中浸泡 10 分钟, 以消除内源性过氧化氢酶的作用;
- (2) 用 PBS 洗 2 min/次 $\times$ 3 次;
- (3) 加一滴试剂 A 于组织切片上 (需完全覆盖待检组织) 孵育 10 分钟;
- (4) 倒掉或吸干液体 (不要冲洗);
- (5) 每张切片加二滴 (100 $\mu$ L) 或适量一抗 (需完全覆盖待检组织), 湿盒内孵育 30 ~ 60min;
- (6) 用 PBS 洗 2 min/次 $\times$ 3 次;
- (7) 每张切片加一滴试剂 B (需完全覆盖待检组织), 孵育 10 分钟;
- (8) 用 PBS 洗 2 min/次 $\times$ 3 次;
- (9) 每张切片加一滴试剂 C (需完全覆盖待检组织), 孵育 10 分钟;

#### 技术支持

tech@neobioscience.com

#### 全国统一客服

4006-800-892

#### 订货热线

0755-26755892 (深圳)  
010-88594029 (北京)  
021-34613729 (上海)  
18024516375 (广州)



- (10) 用 PBS 洗 2 min/次×3 次；
- (11) 制备 DAB 显色液（需现用现配；以染一张切片为例；可根据需要一次染多张切片，具体用量见下表）
- 取 1.8 $\mu$ L 试剂 D 加入到 60 $\mu$ L 试剂 E 中，混匀后即可使用
- (12) 每张切片加一滴上述 DAB 显色液，室温显色 2~10 分钟（可在镜下掌握显色程度）；
- (13) 自来水充分冲洗 5min 左右；
- (14) 复染，盐酸酒精分化；
- (15) 脱水、透明、封片、镜检。

### 3. 结果

阳性结果为在抗原定位处染棕黄或棕褐色。

**配制 DAB 显色液所需试剂 D、E 用量表**

切片数（张）	试剂 D（浓缩 DAB 显色液）	试剂 E（浓缩 DAB 底物缓冲液）
1	1.8 $\mu$ L	60 $\mu$ L
2	3.6 $\mu$ L	120 $\mu$ L
3	5.4 $\mu$ L	180 $\mu$ L
4	7.2 $\mu$ L	240 $\mu$ L
5	9 $\mu$ L	300 $\mu$ L
6	10.8 $\mu$ L	360 $\mu$ L
7	12.6 $\mu$ L	420 $\mu$ L
8	14.4 $\mu$ L	480 $\mu$ L
9	16.2 $\mu$ L	540 $\mu$ L
10	18 $\mu$ L	600 $\mu$ L
20	36 $\mu$ L	1200 $\mu$ L
30	54 $\mu$ L	1800 $\mu$ L
40	72 $\mu$ L	2400 $\mu$ L
50	90 $\mu$ L	3000 $\mu$ L
60	108 $\mu$ L	3600 $\mu$ L
100	180 $\mu$ L	6000 $\mu$ L

### 注意事项

1. 检测标本时需同时做阴性对照和阳性对照；
2. DAB 是一潜在致癌物，使用时请注意自我防护；
3. DAB 显色液需现用现配，避光放置，且在 30 分钟内染色；
4. 用滴瓶加液时，每一滴的体积为 50 $\mu$ L。

#### 技术支持

tech@neobioscience.com

#### 全国统一客服

4006-800-892

#### 订货热线

0755-26755892（深圳）  
010-88594029（北京）  
021-34613729（上海）  
18024516375（广州）