



兔抗体免疫组化试剂盒说明书

(DAB, RABBIT) Cat#:ENS004

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: 抗兔生物素化二抗。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 μ L (60 张片)或 216 μ L (120 张片)或 540 μ 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% H₂O₂
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% H₂O₂-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 分钟/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 μ 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 分钟/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 分钟/次 \times 3 次;

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)



- (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;
- (10) 用 PBS 洗 2 分钟/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 1);
取 1.8 μ L 试剂 D 加入到 60 μ 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 1

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 μ L	60 μ L
2	3.6 μ L	120 μ L
3	5.4 μ L	180 μ L
4	7.2 μ L	240 μ L
5	9 μ L	300 μ L
6	10.8 μ L	360 μ L
7	12.6 μ L	420 μ L
8	14.4 μ L	480 μ L
9	16.2 μ L	540 μ L
10	18 μ L	600 μ L
20	36 μ L	1200 μ L
30	54 μ L	1800 μ L
40	72 μ L	2400 μ L
50	90 μ L	3000 μ L
60	108 μ L	3600 μ L
100	180 μ L	6000 μ 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 μ 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)