

DAB Substrate Kit (辣根过氧化物酶显色)

DAB Substrate Kit



产品货号: D6076S, D6076L

产品规格: 500T, 3000T

储存条件: -20°C避光保存, 有效期见外包装

应用范围: 免疫组化

产品组分

组分	组分含量	
	D6076S	D6076L
A. DAB 浓缩液 (20×)	1.25 mL×2	15 mL
B. DAB 稀释液	48 mL	2×142.5 mL
C. 显色增强剂 (10×)	5 mL	30 mL

产品介绍

DAB, 即 3,3'-diaminobenzidine 是辣根过氧化物酶 (Peroxidase) 的常用生色底物, 在过氧化氢的存在下失去电子而呈现出颜色变化, 形成浅棕色不溶性产物。用于检测过氧化物酶的活性, 它灵敏度高, 特异性好, 是 HRP 结合物最常用的底物, 常在免疫组化、原位杂交、Western Blot 等膜显色或检测细胞或组织内源性的过氧化物酶中应用广泛。

实验步骤

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, 用合适洗涤液清洗 3~5 次。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, 也用合适洗涤液清洗 3~5 次, 每次 3~5 min。
2. 临用前按照下表比例配制 DAB 显色工作液: 可以根据需要按比例缩放体积。

DAB 显色工作液	1 mL	10 mL
DAB 浓缩液 (20×)	0.05 mL	0.5 mL
DAB 稀释液	0.95 mL	9.5 mL

注意: (1) 溶液 A/B 必须完全融化混匀后使用。

(2) 不要使用含有叠氮化钠的缓冲液, 叠氮化钠是一种 HRP 抑制剂。

(3) 配制好的工作液可在 4°C 避光稳定保存 5 天, 工作液内出现的任何沉淀均不影响染色。对于出现沉淀的工作液, 建议高速离心后取上清使用。

3. 检测样本最后一次洗涤完毕后, 去除洗涤液, 加入适量的 DAB 显色工作液, 确保能充分覆盖样品。室温避光孵育 1~30 min 或更长时间, 孵育时间根据样本显色情况而定, 若无背景出现则可继续孵育至显色达到预期深浅。免疫印迹实验, 应保证膜在足够多的染色液中且能被自由晃动。



UElancy Inc.

Tel: 0512-88965152

Web: www.uelandy.com

4. 去除 DAB 染色工作液，用蒸馏水冲洗样品 3~5 次以中止显色反应。
5. DAB 显色较浅时或需进一步增强信号时的可选增强步骤

(1) 按照下表比例配制显色增强液：可以根据需要按比例缩放体积。

显色增强液	1 mL	10 mL
显色增强剂 (10×)	0.1 mL	1 mL
蒸馏水	0.9 mL	9 mL

注意：溶液 C 必须完全混匀后使用。

(2) 最后一次洗涤完毕后，去除蒸馏水，加入适量的显色增强液，确保能充分覆盖样品。室温避光孵育 1~30 min 或更长时间，孵育时间根据样本显色情况而定，直至 DAB 在表位处产生的浅棕色沉淀变成深棕色沉淀且无明显非特异及背景着色。免疫印迹实验，应保证样品在一个足够多的染色液中且能被自由晃动。

(3) 去除显色增强液，用蒸馏水冲洗样品 3~5 次以中止增强显色反应。

6. 对于用显微镜观察的细胞或组织样品，可复染样品（可选）并安装在水性封固介质中。或者可以将样品脱水并安装在有机封固剂中。对于免疫印迹实验，可将膜用水冲洗，风干，然后在室温下储存。

注意事项

1. DAB 对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
2. 新鲜配制的工作液应为无色或浅棕色，颜色变化不会影响染色结果。
3. 显色时间严格控制，根据情况调整，以免显色过度造成非特异性着色。
4. 请将沾有 DAB 显色液 A 的容器等放在含有 3% KMnO_4 ，2% NaHCO_3 的溶液浸泡 3 h，以减少污染。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

