



GenePharma

股票代码：430601

吉玛基因
www.genepharma.com

DAB 染色液试剂盒说明书

【产品名称】

通用名称：DAB 染色液试剂盒

英文名称：DAB Detection Kit

【包装规格】100 次/盒

【预期用途】用于免疫组织化学染色的显色。

【检测原理】免疫显色试剂（酶标记羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物）识别连接组织切片上的一抗；再加入 DAB 显色液，聚合物上的过氧化物酶可以催化 DAB 显色液中的底物分解，使联苯胺氧化变成联苯亚胺，使组织切片中一抗结合的抗原位点出现棕黄色着色。

【主要组成成分】

组份	规格
免疫显色试剂	10 mL/瓶× 1
DAB 染色液 1（浓缩液）	0.6 mL/瓶× 1
DAB 染色液 2（缓冲液）	12 mL/瓶× 1
DAB 染色液 3（预处理液）	10 mL/瓶× 1
DAB 染色液配制管	1 支

本产品未提供如下试剂和耗材：二甲苯、乙醇（无水、95%、85%、70%）、去离子水、中性树胶、一抗、阳性质控片、苏木素染色液、缓冲液（PBS 磷酸盐法）、抗原修复液。

【储存条件及有效期】本产品 2~8℃ 避光保存，不得冻存。产品有效期为 12 个月。使用时采取单支试剂即拿即用的原则，其余组份在 2~8℃ 的冰箱保存。单支试剂使用后，应立即放回冰箱中。按说明书配制成的 DAB 显色液在 2~8℃ 避光条件下保存，6 小时内有效。

【样本要求】新鲜活检或外科样本组织，中性福尔马林固定，固定时间 8~24 小时，参照病理技术规范要求取材、脱水、石蜡包埋并制成蜡块。

组织切片厚度为 3~5 μm 黏附在防脱处理的玻片上，56~60℃ 烤片两个小时后，进行后



GenePharma

股票代码: 430601

吉玛基因
www.genepharma.com

续实验。如果切片在室温下（18~28℃）保存，为了良好地重现组织中抗原分布情况，要在2个月内完成染色。

【使用方法】

1. 准备工作:

1) 仪器设备: 电磁炉, 不锈钢高压锅, 孵育盒, 计时器, 免疫组化笔, 移液器, 染色架, 盖玻片, 洗瓶, 光学显微镜;

2) 溶液配制

DAB 显色液: 在 DAB 染色液配制管中依次加入 DAB 染色液 2 (缓冲液) 1 mL, DAB 染色液 1 (浓缩液) 一滴 (约 50 μ l), 混匀。配制好的 DAB 显色液避光 2~8℃ 存放, 6 小时内有效;

3) 反应温度: 室温 (18℃~28℃);

2. 操作步骤:

1) 样本准备: 将切片于 60℃ 恒温箱中烤片 2 小时。

2) 脱蜡与水化:

a. 烤片完成后将石蜡切片迅速置于新鲜二甲苯中, 浸泡 15 分钟×2 次。

b. 石蜡切片依次置于梯度酒精中 (100%, 95%, 85%, 70%), 每次 3 分钟。

c. 蒸馏水冲洗 1 次, PBS 冲洗 2 次, 每次 3 分钟。

3) 抗原修复: 参照一抗说明书进行。

4) 内源性过氧化物酶灭活: 甩掉多余液体, 用免疫组化笔将组织圈住, 加入 1-3 滴 DAB 染色液 3 (预处理液) 完全覆盖组织, 室温孵育 15 分钟, PBS 冲洗 2 次, 每次 3 分钟。

5) 一抗及亚型对照抗体孵育: 加入 1-3 滴即用型抗体或相应的亚型对照抗体完全覆盖组织, 室温湿盒孵育 60 分钟。PBS 冲洗 3 次, 每次 3 分钟。

6) 二抗孵育: 加入 1-3 滴免疫显色试剂 (HRP 酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物) 完全覆盖组织, 室温湿盒孵育 30 分钟, PBS 冲洗 3 次, 每次 3 分钟。

7) DAB 显色: 去除 PBS 溶液, 加入 1-3 滴新鲜配制的 DAB 显色液完全覆盖组织, 依据颜色变化显色 1-3 分钟, 蒸馏水冲洗终止显色。



GenePharma

股票代码：430601

吉玛基因
www.genepharma.com

注意：配制好的 DAB 显色液需在 6 小时内使用，否则会影响显色效果。

- 8) 苏木素衬染：苏木素染色 5 分钟，PBS 冲洗返蓝。
- 9) 脱水透明：依次浸泡梯度酒精 70%，85%，95%，100%，每次 3 分钟。二甲苯透明 10 分钟。
- 10) 封片：用中性树胶对样品进行封片。
- 11) 结果分析：光学显微镜下观察免疫组化染色结果，结果分析应由有资质的病理医师判断。

【检测结果的解释】

1. 抗原修复条件，抗体孵育时间，抗体孵育温度及显色时间不合适均有可能得出错误的结果。
2. 在每一次染色过程中，必须有对照实验同时进行。
3. 实验操作正常情况下，若阴性对照出现阳性染色结果，则判为假阳性，该批实验数据无效。建议重新实验或联系试剂生产厂家排查原因。
4. 如果阳性组织对照不能显示适当的阳性染色，使用者应认为该批次测试样本的结果无效。
5. 若酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物孵育温度过高或孵育时间过长，可能导致染色过强及背景染色。

【检测方法的局限性】

本试剂仅供体外诊断使用，免疫组化作为一种多步骤的实验技术手段，组织的固定处理方式，切片厚度，试剂的选择中的任一环节的不当操作都有可能影响染色结果。

【产品性能指标】

产品性能符合本公司制定的相关技术要求。

【注意事项】

1. 本染色液仅用于免疫组化，不做其他用途。
2. 本染色液仅限专业人员使用。
3. 应用适当的防护措施，以避免试剂同皮肤和眼睛接触。
4. 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。
5. 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。



GenePharma

股票代码: 430601

吉玛基因
www.genepharma.com

6. 超过有效期的试剂活性可能降低, 因此不得使用过期的染色液。
7. 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。
8. 本染色液是否应用于冷冻切片及细胞涂片还未得到证实。
9. 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。
10. 实验中滴加试剂时, 过多的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。
11. 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. 中华医学会.《临床技术操作规范病理学分册》.人民军医出版社,2004.
2. 吴秉铨, 刘彦仿.《免疫组织化学病理诊断》第2版.北京科学技术出版社,2013.
3. (美)戴博斯(Dabbs,D.J.),《诊断免疫组织化学》.北京大学医学出版社,2008



B044-V001A-20210309