**DAB 显色试剂盒（20×）说明书 B1072**

**描述：**二氨基联苯胺（Diaminobenzidine,DAB）是过氧化物酶（POD）的底物，DAB 显色液主要用于免疫过氧化物酶法，适用于辣根过氧化物酶 HRP 标记的免疫印记或免疫组化反应。过氧化物酶使底物发生反应，于反应部位产生棕色沉淀物。免疫印记可直接在膜上显示条带。免疫组化标本显色时间一般为室温 5-20 分钟，随后在显微镜下观察显色情况，显色充分后应将标本及时脱水封固。其终产物可直接在光镜下观察，也可经 OsO4 处理后，增加反应产物的电子密度，用于电镜观察。

**规格：** 溶液 A: 10ml 溶液 B：10ml

**储存:** -20℃避光密闭保存，一年有效。避免反复冻融。短期可 2-8℃保存。

**使用说明：**

1.对于组织切片或蛋白质印记膜，在与辣根过氧化物酶（HRP）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 3-5 分钟。

2.取 900ul PBS（或双蒸水），加入 50ul 溶液 A，50ul 溶液 B 混合均匀，即配成 DAB 工作液。

如需要更大体积工作液，可按比例放大。此溶液必须现用现配，配好后避光保存，1 小时内使用，过期后请将剩余的液体废弃。

3.向组织切片或膜上加入适量 DAB 工作液，确保能充分覆盖样品。

4.室温避光孵育 3-10 分钟或更长时间，避免光照，直至显色至预期深浅。

5.去除 DAB 染色工作液，用蒸馏水洗涤 2-3 次即可终止显色反应。

对于组织切片或细胞样品，显色反应终止后，可对其进行其他染料复染。对于膜，显色反应终止后，可以室温晾干避光保存。

**注意:**

1．DAB 溶液应低温密封保存。如有结晶析出，应确保结晶完全溶解再行使用；

2．显色工作液应现用现配，新鲜配制的工作液应为无色或浅棕色，如颜色过深，请勿使用；

3．显色时间严格控制，根据情况调整，以免显色过度。固相膜显色数小时后即会褪色，不能永久存在；

4．DAB 为可疑致癌物，请采取必要的防范措施。操作时应戴手套，尽量避免与皮肤接触，用后及时彻底冲洗，接触 DAB 的实验用品最好经洗液浸泡 24h 后使用。