DAB 染色液（增强聚合物法）说明书

【产品名称】

通用名称：DAB 染色液（增强聚合物法）

英文名称：DAB Detection Kit（Enhanced Polymer）

商品名称：EliVision DAB

【包装规格】

60 人份/盒、180 人份/盒、1100 人份/盒。

【预期用途】

本司生产的 DAB 染色液（增强聚合物法），用于显示鼠源和兔源性一抗，对常规经福尔马林固定、石蜡包埋组织切片中的靶抗原进行染色，适用于在生物显微镜下观察。

【检验原理】

首先是反应增强液促使酶标抗小鼠/兔 IgG 聚合物与组织切片上的一抗连接，再加入 DAB 显色液，聚合物上的辣根过氧化酶部分可以催化 DAB 显色液中的 H_2O_2 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上出现黄色或棕黄色着色。

【主要组成成份】

试剂 1：	反应增强液	6ml/瓶×1	18ml/瓶×1	110ml/瓶×1
试剂 2：	酶标抗小鼠/兔 IgG 聚合物	6ml/瓶×1	18ml/瓶×1	110ml/瓶×1
试剂 3A：	稳定型 DAB 缓冲液	12ml/瓶×1	36ml/瓶×1	220ml/瓶×1
试剂 3B：	稳定型 DAB 底物	1ml/瓶×1	2ml/瓶×1	11ml/瓶×1
试剂 3C：	稳定型 DAB 色原	1ml/瓶×1	2ml/瓶×1	11ml/瓶×1
试　管：	DAB 显色液配制管	1 支	1 支	1 支

不同批号染色液各组成成份不可互换使用

本产品未提供如下试剂：二甲苯、乙醇（无水、95%、85%）、蒸馏水、内源性过氧化物酶阻断剂、中性树胶、一抗、阳性质控片、苏木素、PBS 缓冲液。

【储存条件及有效期】

2-8℃避光保存, 不得冻存。自检定合格之日起有效期为 12 个月。

使用时，采取单支试剂即拿即用的原则，盒中其余组分在 2-8℃的冰箱保存。单支试剂在每次使用后，应立即放回盒中。

按说明书配制成的 DAB 显色液在避光条件下保存，24 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《临床技术操作规范 病理学分册》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 黏附在多聚赖氨酸玻片上，放入 56–60 ℃ 干燥箱中加热两个小时后，移出放置冷却至室温。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 3 个月内完成染色。

【检验方法】

1　检验所需仪器、设备

移液器、免疫组化油笔、干燥箱、计时器、孵育盒、染色架、盖玻片、生物显微镜、洗瓶。

2　溶液配置

DAB显色液：DAB显色液需要在使用前配制。配制方法：在配备的小试管中依次滴加稳定型DAB缓冲液1ml，稳定型DAB底物50-100μl，稳定型DAB色原50-100μl，以配制DAB显

色液。配置好的DAB显色液避光存放，24小时内有效。

3　试验温度条件：18-28℃

4　试验步骤

a) 脱蜡和水化

石蜡切片置于新鲜的二甲苯中，浸泡15分钟×2次，

除去多余的液体后，置无水乙醇中，浸泡3分钟×2次；

除去多余的液体后，置95%乙醇中，浸泡3分钟；

除去多余的液体后，置85%乙醇中，浸泡3分钟；

自来水冲洗1分钟；

PBS溶液冲洗3分钟×3次。

b) 抗原修复：参照一抗说明书进行。

c）阻断内源性过氧化物酶

将抗原修复后的切片用自来水冲洗1分钟，用油笔圈定玻片上的待测组织区域，PBS溶液冲洗3分钟×3次。

除去PBS溶液，在油笔圈定的区域内加100μl内源性过氧化物酶阻断剂，室温下孵育10分钟；

PBS溶液冲洗3分钟×3次。

d）加抗体

除去PBS溶液，加100μl一抗，室温下孵育60分钟。

PBS溶液冲洗3分钟×3次。

e）加反应增强液

除去PBS溶液，加100μl反应增强液，室温下孵育20分钟。

PBS溶液冲洗3分钟×3次。

f）加酶标抗小鼠/兔IgG聚合物

除去PBS溶液，加100μl酶标抗小鼠/兔IgG聚合物，室温下孵育30分钟。

PBS溶液冲洗3分钟×3次。

g）显色

除去PBS溶液，加100-200μl新鲜配制的DAB显色液，室温下孵育3-5分钟。

h）复染

自来水冲洗，加100-200μl苏木素体细胞染色液（迈新注册号：闽榕食药监械（准）字2014第1400011号）孵育10-30秒，或自行配制的苏木素染色至细胞核浅蓝色；

PBS溶液或自来水冲洗返蓝。

i）脱水、透明、封片

置85%乙醇中，浸泡3分钟；

置95%乙醇中，浸泡3分钟；

置无水乙醇中，浸泡3分钟；

二甲苯透明；

中性树胶和盖玻片封片

j）生物显微镜阅片

5 结果判断

该染色液会在相应的抗原存在区域沉淀，出现棕黄色物质。染色检测结果要由有资质的病理医生在生物显微镜下对染色后切片进行观察并进行判断。

【检验结果的解释】

1 抗原修复、孵育时间、温度的修改或使用其他方法均有可能得出错误结果。

2 在每一次染色过程中，必须有对照实验同时进行。

3 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实验测试样本的结果无效。

4 若反应增强液或酶标抗小鼠/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。

【检验方法的局限性】

1 染色前，实验中的任一环节的不当操作都有可能影响最终的实验结果。

【产品性能指标】

1 pH 值：稳定型 DAB 缓冲液 pH 值为 7.6±0.2。

2 染色效果：用六种不同的一抗，配合相应的阳性对照片进行染色，六张阳性片中的特定细胞位置应观察到黄色或棕黄色着色，且无背景染色。同时，不使用一抗，直接使用染色液在以上六张阳性片上进行染色，六张阳性片上未观察到任何黄色或棕黄色着色。

3 批内差：取同一批次的产品，检测以上六种抗体同一来源的阳性对照片，同一来源的三份阳性对照片中特定细胞位置上观察到黄色或棕黄色着色，且颜色无明显差异，同时无背景染色。

【注意事项】

1 本染色液仅用于染色，不做其它用途。

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 本染色液是否应用于非福尔马林固定组织还未得到证实。

5 染色液中的 DAB 色原为致癌物质，操作中应采用合理的防护措施。

6 若将本公司检测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。

7 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。

8 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。

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空白对照。

10 操作中滴加试剂时，过多的 PBS 缓冲液未沥干致使试剂被稀释，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 吴秉铨, 刘彦仿. 免疫组织化学病理诊断[M]. 北京: 北京科学技术出版社,2007.3.

2 [美]戴博斯（Dabbs David J）.诊断免疫组织化学[M]. 北京: 北京大学医学出版社,2008.9.

3 [美]Ed Harlow,David Lane. 抗体技术实验指南[M]. 沈关心, 龚非力等译. 北京: 科学出版社, 2002:79-80,105.

4 Shan-Rong Shi,James Guo,Richard J.Cote,et al:Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology,vol 7,201-208,1999.

【生产企业】 福州迈新生物技术开发有限公司

注册地址：福州高新区海西高新技术产业园创新园 12 号楼　　邮编：350108

生产地址：福州高新区海西高新技术产业园创新园 12 号楼 1-3 层、5-6 层　　邮编：350108

电话：0591-83732741　　传真：0591-83720685　　网址：www.maxim.com.cn

【医疗器械生产企业许可证编号】闽食药监械生产许第 20100169 号

【医疗器械注册证书编号】闽榕食药监械（准）字 2014 第 1400012 号

【产品标准编号】YZB/闽榕 0070-2011
【说明书批准及修改日期】2014 年 4 月 17 日