

## DAB 染色液使用说明书

### 【产品名称】

通用名称: DAB 染色液

英文名称: GTVision™+Detection System/Mo&Rb

### 【包装规格】

规格: 1200 次测试/盒。

### 【预期用途】

主要用于免疫组织化学染色的显色。

### 【检验原理】

DAB 染色液是特别敏感的二步法免疫组化试剂盒, 适合与兔或鼠源一抗配用。其主要过程为, 一抗与切片中的靶抗原形成抗原抗体复合物, 酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物 (以多聚葡萄糖分子为骨架, 辣根过氧化物酶与羊抗鼠/兔 IgG 形成的聚合物) 与抗原抗体复合物中的一抗结合, 再利用辣根过氧化物酶催化二氨基联苯胺 (DAB) 在抗原部位形成棕色显色。

### 【主要组成成分】

| 产品组成                  | 主要成份                                  | 1200 次测试/盒 | 备注  |
|-----------------------|---------------------------------------|------------|-----|
| 非特异性染色阻断剂 (A 液)       | 3% 的过氧化氢、叠氮钠、无机盐                      | 120ml×1    |     |
| 酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物 (B 液) | 辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 Ig 和抗兔 Ig 混合物、缓冲液、防腐剂 | 12ml×10    |     |
| DAB 显色剂 (C1 液)        | 3,3'-二氨基联苯胺盐酸盐、防腐剂                    | 4ml×2      |     |
| 显色缓冲液 (C2 液)          | 咪唑盐酸缓冲液、过氧化氢、防腐剂                      | 100ml×2    |     |
| 高 pH 脱蜡抗原修复液 (D 液)    | Tris base、TritonX-100、EDTA            | 50ml×9     | 30X |
| 洗涤缓冲液 (E 液)           | Tris base、氯化钠、Tween-20、防腐剂            | 1L×4       | 20X |
| 制备管                   | /                                     | 1 个        |     |
| 说明书                   | /                                     | 1 份        |     |

### 【储存条件及有效期】

2-8℃保存, 有效期 18 个月。初次开瓶后, 2-8℃储存, 有效期 3 个月。

### 【适用仪器】

光学显微镜 (20-80 倍)。

### 【所需的自备材料】

- 1、塑料染色缸 (GT100504)、染色架 (GT100505)
- 2、阴性和阳性对照 (类型参照相应一抗说明书)

3、蒸馏水、酒精、二甲苯

4、浓缩型或即用型一抗

5、抗体稀释液 (GT100910)

6、盐酸酒精溶液。

7、苏木素染液 (GT100520、GT100530)

8、中性树胶 (GT100519)

9、盖玻片 (GT100518)

### 【样本要求】

常规经福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片。

### 【检验方法】

#### 常规脱蜡水化:

将石蜡切片浸于二甲苯中5分钟, 三次。取出切片置于100%无水乙醇中3分钟两次; 依次置入90%—70%各级酒精各3分钟。用PBS或TBS冲洗3次, 每次3分钟。

#### 抗原修复:

参照一抗说明书进行抗原修复。

#### 溶液配制:

#### DAB显色液:

DAB工作液需要在使用前进行配制, 在配备的小试管中按每毫升显色缓冲液 (C2液) 中加入1滴DAB显色剂 (C1液) (约40ul左右) 的比例配制DAB工作液, 混匀后用滴加显色。配制好的DAB工作液需在2小时内使用, 如出现沉淀, 使用前先混匀。

#### 高pH脱蜡抗原修复液 (D液):

脱蜡抗原修复液为30×浓缩液, 使用前应先稀释, 脱蜡抗原修复液可以反复使用3次 (1.5升工作液可以处理最多72张石蜡片), 稀释的脱蜡抗原修复液应在一周内用完。

#### 洗涤缓冲液 (E 液):

洗涤缓冲液为20×浓缩液, 使用前应预先稀释, 稀释的洗涤缓冲液应在一周内用完。

#### 操作步骤:

1) 染色前将石蜡切片置于56-60度烘箱加热2小时, 移出放置冷却至室温。

2) 参照一抗说明书, 使用高pH脱蜡抗原修复液 (D液) 进行脱蜡以及抗原修复。(压力锅法建议保压2-3分钟, 自然降温20分钟)。

3) 修复后的切片用洗涤缓冲液 (E液) 冲洗3次, 每次3分钟。

4) 除去洗涤缓冲液, 用阻水笔 (GT1000/GT1001) 圈定玻片上的待测组织区域。

5) 每张切片加非特异性染色阻断剂 (A液) 1-2滴 (每滴约50ul, 视切片大小, 以完全覆盖切片组织为宜), 室温下孵育10分钟。E液冲洗3次, 每次3分钟。

6) 除去洗涤缓冲液 (E液), 每张切片加1-2滴 (视切片大小, 以完全覆盖切片组织为宜) 的一抗工作液(用户自备), 并按各自一抗说明书操作。一抗孵育完成后, 用E液冲洗3次, 每次3分钟。

7) 除去E液, 每张切片加B液1-2滴 (每滴约50 $\mu$ l, 视切片大小, 以完全覆盖切片组织为宜), 室温下孵育15-20分钟。E液冲洗3次, 每次3分钟。

8) 除去E液, 每张切片加100 $\mu$ l新鲜配制的DAB显色液, 室温显色5-10分钟 (镜检控制染色)。

9) 自来水冲洗, 苏木素复染。

10) 切片经过脱水, 透明, 常规封片。

#### 【参考值】

本试剂为定性检测试剂。

#### 【检验结果的解释】

在阳性和阴性组织对照显色正常前提下: 阳性: 呈棕色显色为靶抗原部位; 阴性: 无棕色染色为非靶抗原部位。结果解释应由有资质的病理医生来判断。

#### 【检测方法的局限性】

- 1、免疫组织化学是一种多步骤的检测过程, 样本处理、试剂选择、实验操作等都有可能影响最终的染色结果, 因此操作者需要经过专业的培训并按标准规范操作。DAB染色前任一环节的不规范操作都有可能影响最终的实验结果。
- 2、专业的操作人员、经过认证的实验室将有助于实现检测过程的标准化, 从而减少由于各种外界因素造成的染色偏差。
- 3、必须由有经验的病理专家结合临床病史、形态学和其他组织病理学标准来评估染色结果。

影响因素:

- 1、免疫组织化学是一种多步骤的检测过程, 样本处理、试剂选择、实验操作等都有可能影响最终的染色结果, 因此操作者需要经过专业的培训并按标准规范操作。
- 2、必须由有经验的病理专家结合临床病史、形态学和其他组织病理学标准来评估染色结果。

#### 【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

#### 【注意事项】

- 1、本染色液仅用于体外诊断, 不做其他用途。
- 2、开始实验前, 应仔细阅读此说明书。
- 3、请在试剂盒有效期内使用。
- 4、本染色液仅限专业经验或经专业培训的人使用。
- 5、若将本产品中的组分和其他公司的产品混合使用, 染色过程中可能出现异常情况。
- 6、实验过程中的二甲苯和梯度酒精应经常更换, 避免脱水透明不彻底。
- 7、避免试剂接触眼睛和粘膜, 如接触到敏感区域, 立即用大量

清水冲洗。

8、每次检测均应设置阴阳性对照品。

#### 【参考文献】

- 1、Shan-Rong Shi, James Guo, Richard J. Cote, Lillian Young, Debra Hawes, Yan Shi, Sandra Thu, and Clive R. Taylor, Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology, vol 7, 201-208, 1999.
- 2、Naish SJ (ed). Handbook-immunochemical staining methods. Carpinteria: Dako 1989
- 3、Elias JM, et al. Special report: Quality control in immunohistochemistry. Amer J Clin Pathol 1989; 92:836

#### 【基本信息】

注册人/生产企业: 基因科技(上海)股份有限公司

住所: 上海市闵行区紫月路505号 邮编: 200241

电话: 021-67285000 传真: 021-67285900

网址: www.genetech.com.cn

售后服务单位: 基因科技(上海)股份有限公司

生产地址: 上海市闵行区紫竹高新技术产业开发紫月路505号1号楼A区1-2层

【医疗器械生产备案凭证编号】沪闵食药监械生产备20121840号

【医疗器械产品备案凭证编号】沪闵械备20140019号

【医疗器械产品技术要求编号】沪闵械备20140019号

【说明书核准日期及修改日期】

第四次修改日期: 2020.04.13

第三次修改日期: 2016.07.29

第二次修改日期: 2015.09.10

第一次修改日期: 2015.07.09

核准日期: 2014.10.23