**4CN显色试剂盒(HRP显色)说明书**

**产品编号：** RC21315

**产品简介：**

4CN 是 4-氯-1-萘酚的缩写，属于辣根过氧化物酶(HRP)发色系统，与 DAB、TMB 显

色原理类似。

4CN 显色试剂盒(HRP 显色)其显色原理是 4CN 与氧化物形成紫色沉淀，可以用于细胞

或组织在免疫组化或原位杂交时结合的辣根过氧化物酶显色，也可用于Western 等结合有辣根过氧化物酶的膜的显色检测，同时也可以用于细胞或组织内源性的辣根过氧化物酶显色。该显色试剂盒灵敏度一般，过多的吐温 20 会抑制其显色反应，光照下易褪色。该试剂盒仅用于科研领域，不用于临床诊断或治疗。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 编号  名称 | RC21315 | Storage |
| 试剂(A): 4CN 显色液 | 10ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(B): 4CN 稀释液 | 90ml | RT |
| 试剂(C): 4CN 氧化剂 | 2×1ml | 4℃ |
| 使用说明书 | 1 份 | |

**产品组成：**

**自备材料：**

1. 洗涤液
2. 蒸馏水

**操作步骤** (仅供参考) **：**

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， 用适当洗涤液洗涤 3～5 次，每次 3～5min。

对于检测内源性辣根过氧化物酶的组织或细胞样品，在适当固定后也可用洗涤液洗涤 3～5 次，每次 3～5min。

1. 按 4CN 显色液: 4CN 稀释液：4CN 氧化剂=200：1800：1 的比例混合, 即为 4CN 显 色工作液，即配即用。
2. 洗涤组织，去除洗涤液，加入适量 4CN 显色工作液，确保覆盖样品。
3. 室温避光孵育 30min 或更长时间，直至显色至预期深浅。
4. 去除 4CN 显色工作液，用蒸馏水清洗 1～2 次即可终止显色反应。
5. 对组织切片或细胞样品，反应终止后如有必要可用中性红染色液染色，便于观察；对于 膜染色，反终止后可室温晾干避光保存。

**注意事项：**

1. 本试剂盒提供的 4CN 氧化剂多于实际使用量，请按比例使用。
2. 4CN 氧化剂易挥发，请注意密闭保存，以免效率下降，一旦开封请尽快使用。
3. 4CN 氧化剂有腐蚀性，请勿直接接触于人皮肤、毛发等。
4. 显色后易褪色，请注意避光，以减少染料分解。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**常见问题及可能原因：**

1. 背景显色太深

①在免疫组化时如果背景显色太深，考虑使用适当的封闭液进行封闭，例如选购适当的 封闭液或使用和一抗相同来源的血清(10%)进行封闭。也应请注意选购经过适当吸附的 二抗，以减小二抗的非特异性吸附。

②在进行含内源性过氧化氢酶的免疫组化时，如果背景显色太深，需注意灭活内源性过 氧化氢酶。可以在 4 倍体积甲醇中加入 1 倍体积 3%过氧化氢，混匀后用于内源性过氧 化氢酶的灭活。

③可以考虑缩短显色时间，或降低二抗浓度。

④选择适当强度的洗涤液，或延长洗涤时间。

1. 没有显色或显色太弱

①适当提高一抗或二抗的浓度；检测二抗效果，滴 1 滴稀释二抗在膜上，检测二抗是否 可以被正常显色。

②考虑使用更加灵敏的放大检测体系，例如使用生物素检测体系。

③适当延长显色时间，另外确定抗原修复是否对于使用的一抗是必需的。

**有效期：** ：6 个月有效。4℃运输，4℃保存