

神经HRP示踪显色液(DAB法)

产品货号: R23017

产品规格: 50T

产品简介:

上个世纪70年代, Kristensopn和Olsson报道了HRP可神经末梢摄取, 经轴浆逆行运输至神经元胞体, 经组织化学方法可显示出神经元的轮廓, 从而开发出HRP追踪神经元示踪技术, 即为HRP法。DAB即3,3N-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride, 是辣根过氧化物酶的常用底物。在辣根过氧化物酶的催化下, DAB会产生棕色沉淀, 该棕色沉淀不溶于水和乙醇, 显色后呈棕色, 可在显微镜下观察。

尚宝生物 神经HRP示踪显色液(DAB法)是动物经麻醉、注入HRP后, 游离或络合型的HRP不氧化剂反应生成络合物, 该络合物氧化供氢的DAB显色剂, 呈棕色, 在显微镜下清晰可见。该显色液仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	50T	保存条件
试剂(A): DAB assay buffer	2×500ml	室温, 避光
试剂(B): DAB 显色液	30ml	-20℃, 避光
试剂(C): DAB 增强剂	2×1ml	室温
试剂(D): DAB Wash buffer(20×)	100ml	室温

操作步骤(仅供参考):

(一)、准备工作

1. 动物麻醉: 多用(3.5%)戊巴比妥钠作为麻醉剂, 大鼠的麻醉剂量为0.25-0.35ml/100g。
2. 导入HRP: 有压力注射法、电泳法以及周围神经系统的注射涂抹等法。
3. 确定动物存活期。
4. 动物灌注: 麻醉后, 经左心室升主动脉插管行心内灌注固定。先用生理盐水或PBS快速灌注。随后用4%的多聚甲醛固定液灌注, 先快后慢, 时间控制在30-40min。最后用10%蔗糖磷酸缓冲液(pH7.4)。
5. 取材: 取组织置于20%的蔗糖磷酸盐缓冲液中, 切片厚度40μm, 存于蔗糖磷酸盐缓冲液备用。

(二)、显色反应

1. 配制DAB孵育液: 取适量的DAB assay buffer和DAB显色液, 按DAB assay buffer: DAB显色液=39:1的比例混合, 即为DAB孵育液, 即配即用, 不宜保存。
2. 配制DAB显色工作液: 取适量的DAB孵育液和DAB增强剂, 按DAB孵育液: DAB增强剂=2000~8000: 1的比例混合(具体比例应根据具体时间摸索确定), 即为DAB显色工作液, 即配即用, 不宜保存。
3. 配制1×DAB Wash buffer: 取适量的DAB Wash buffer(20×), 按DAB Wash buffer: 蒸馏水=1:19的比例混合, 即为 1×DAB Wash buffer。室温保存, 6月有效。
4. 切片用蒸馏水清洗3次, 每次2min。
5. 切片入10ml DAB孵育液(提前20℃温育), 避光孵育20min, 其间不断晃动。
6. 切片入10ml DAB显色工作液(提前20℃温育), 避光孵育20min, 其间不断晃动。
7. 漂洗: 取10ml左右的1×DAB Wash buffer漂洗切片2-3次, 每次5min。
8. 贴片, 载玻片用铬明矾明胶包被, 室温空气干燥。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

9. 脱水、透明步骤按如下操作：

- ①蒸馏水 10s
- ②70%乙醇 10s
- ③95%乙醇 10s
- ④100%乙醇2次，每次10s
- ⑤二甲苯2次，每次2~5min。

10. 中性树胶封片，显微镜下观察棕色反应。

注意事项：

1. 如果出现高的反应背景或沉淀，表明DAB底物反应过于强烈。
2. 所用器皿必须洁净，避免含有氧化剂或还原剂，否则会产生非特异性反应。
3. DAB显色液避免反复冻融，以免显色效率下降。
4. DAB增强剂注意密闭保存，否则显色效率下降。

有效期：12个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

<http://www.saint-bio.com>