

神经 HRP 示踪显色试剂盒(DAB 法)

Neural HRP tracer chromogenic kit (DAB method)

货号： S0201

规格： 50T

保存条件：

-20℃避光保存，有效期 12 个月。

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。

神经 HRP 示踪显色试剂盒(DAB 法)是动物经麻醉、注入 HRP 后，游离或络合型的 HRP 与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。

本产品仅用于科研领域，不用于临床诊断。

产品组成：

名称 \ 规格	50T	Storage
S0201 (A): DAB assay buffer	2×500ml	RT 避光
S0201 (B): DAB 显色液	30ml	-20℃ 避光
S0201 (C): DAB 增强剂	2×1ml	4℃避光
S0201 (D): DAB Wash buffer(20×)	100ml	RT

使用方法：

(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。
9. 脱水、透明、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。