

## 神经 HRP 示踪显色液(DAB 法)

### 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 Tertrahydrochloride, 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。

Leagene 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 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。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

名称	编号	DK0046 50T	Storage
试剂(A): DAB Assay Buffer		2×500ml	RT 避光
试剂(B): DAB 显色液		30ml	-20°C 避光
试剂(C): DAB 增强剂		2×1ml	4°C 避光
试剂(D): DAB Wash Buffer(20×)		100ml	RT
使用说明书			1 份

### 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°C 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°C 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
    - ⑤二甲苯或 Leagene 脱蜡透明液透明 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。
- 5、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 6、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

**有效期:** 12 个月内有效。低温运输, 按要求保存。

### 相关产品:

产品编号	产品名称
CC0007	磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DC0032	Masson 三色染色液
DF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)