

神经HRP示踪显色液（TMB法）

产品货号：R23106

产品规格：50T/100T

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。3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)是非常优越的酶免试验显色剂，能溶解于多种有机溶剂和双蒸水中，为稳定的无色溶液，与适量过氧化脲或双氧水与缓冲液混匀后，与过氧化物酶作用产生清晰的蓝色产物，极易观察，在辣根过氧化物酶的催化下，TMB会产生蓝色沉淀，该沉淀不溶于水和乙醇，显色后呈蓝色，可在显微镜下观察。

乐业神经 HRP示踪显色液(TMB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TMB显色剂，呈蓝色，在显微镜下清晰可见，该检测法较DAB法灵敏。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	100T	保存条件
试剂(A): TMB Assay buffer	500ml	1000ml	4℃，避光
试剂(B): TMB显色液	15ml	30ml	4℃，避光
试剂(C): TMB增强剂	2×1ml	2×2ml	4℃
试剂(D): TMB Wash buffer(20×)	100ml	200ml	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、速眠宁或 10%水合氯醛等作为麻醉剂，对于戊巴比妥钠大鼠的麻醉剂量为 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(pH7.2~7.4)灌注。
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 TMB 孵育液：取适量的 TMB Assay buffer 和 TMB 显色液，按 TMB Assay buffer：TMB 显色液=39:1 的比例混合，即为 TMB 孵育液，即配即用，不宜保存。
2. 配制 1×TMB Wash buffer：取适量的 TMB Wash buffer(20×)，按 TMB Wash buffer：蒸馏水=1:19 的比例混合，即为 1×TMB Wash buffer，室温保存，6 月有效。
3. 切片用蒸馏水清洗 3 次，每次 2min。
4. 切片入 10ml TMB 孵育液(提前 20℃温育)，避光孵育 20min，其间不断晃动。
5. 将切片取出，配制 TMB 显色工作液：在用过的 TMB 孵育液中直接加入 TMB 增强剂，按 TMB 孵育液：TMB 增强剂=2000~8000：1 的比例混合(具体比例应根据具体实验摸索确定)，即为 TMB 显色工作液，即配即用，不宜保存。
6. 重新将切片浸入刚配置好的 TMB 显色工作液，20℃温育，避光孵育 20min，不断晃动。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

7. 漂洗：取 10ml 左右的 1×TMB 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 2 次，每次 2~5min。
10. 中性树胶封片，显微镜下观察蓝色反应。

注意事项：

1. 如果出现高的反应背景或沉淀，表明TMB底物反应过于强烈。
2. TMB显色工作液配置后会出现蓝色絮状颗粒，属于正常现象，使用时需要不断晃动，避免颗粒沉着于切片上，影响后续的观察。
3. 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。
4. TMB显色液避免反复冻融，TMB 增强剂注意密闭保存，以免显色效率下降。
5. Wash buffer有挥发性气体，因此使用完要拧紧瓶盖，防止挥发失效。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 12个月内有效。4℃运输，4℃保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com