

实验步骤: 斑马鱼全胚胎包埋免疫组化染色 (IHC-WM)

材料/试剂/缓冲液

1. PBT: 0.1 M phosphate buffer ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, pH7.3-7.4) + 0.8% Triton X-100
2. PBST: PBS + 0.1 % Tween 20
3. Tris缓冲液: 150 mM Tris-HCl, pH9.0
4. NGS: Normal goat serum (正常山羊血清)
5. BSA: Bovine serum albumin (胎牛血清蛋白)

方法

1. 必要时, 请先剥除鱼卵壳, 将鱼胚胎放在PFA中, 于4°C固定过夜
2. 吸除PFA, 用PBST润洗胚胎10分钟, 总共洗3次
3. 将胚胎依序浸泡于以下浓度甲醇(methanol/PBST)中进行脱水
(25% → 50 % → 75 % → 100 % methanol/PBST, 每个步骤10 分钟)
4. 将泡在甲醇中的胚胎放置于冰箱(-20°C)过夜
注意: 胚胎可泡在100 %甲醇中保存数月
5. 依下列顺序, 用不同浓度methanol/PBST润洗胚胎以进行覆水
(100 % → 75 % → 50 % → 25 % methanol/PBST, 每个步骤5 分钟)
6. 用PBST润洗胚胎5分钟, 总共洗3次
7. 用Tris缓冲液润洗胚胎5分钟
8. 将Tris缓冲液加入胚胎, 放在70°C平衡15分钟
9. 用PBST润洗胚胎2次, 每次洗脱5分钟
注意: 如果胚胎>24hdf, 请进行步骤10-12
10. 在冰上用去离子水快速润洗胚胎
11. 用预先存放于-20°C的丙酮(Acetone)浸润通透胚胎组织20分钟
12. 移除丙酮, 用去离子水润洗胚胎5分钟, 总共洗3次
13. 将新鲜配制的10% NGS/2% BSA/PBT加入胚胎, 在4°C反应4小时
14. 加入用2% NGS/2% BSA/PBT稀释过的一抗(加入的抗体浓度随抗体种类不同而调整), 在4°C孵育一天
15. 用PBT洗脱胚胎30分钟, 总共洗4次
16. 加入用2% NGS/2% BSA/PBT稀释过的二抗, 于室温下反应3小时(需避光)
17. 用PBST润洗胚胎5分钟, 总共洗5次
18. 用4% PFA再一次将细胞固定, 置于室温20分钟
19. 用PBST润洗胚胎5分钟, 总共洗5次
20. 将胚胎依序浸泡于以下浓度glycerol/PBS中以置换为100%甘油(glycerol), 最后在显微镜下观察
(25% → 50% → 75% → 100% glycerol/PBS, 每个步骤20分钟)



GeneTex 简介

ABOUT

GeneTex 背景

1997年GeneTex由一群科学家成立于美国德克萨斯州，为抗体制造商，成立宗旨“专注生物相关试剂生产，加速科学研究与发展，在每一个产品里你将看到我们对质量的要求与坚持”。

成立之初，科学家致力于寻找引发癌症的分子新靶点，并开发抗体供科研使用。之后，GeneTex专注抗体开发，网罗世界各地人才，至今已开发出50,000个产品，产品线横跨癌症、病毒、遗传学、神经学、免疫学、细胞分子传递、干细胞研究、斑马鱼等多个领域，并提供完善的定制抗体制备服务。

GeneTex 承诺

在我们制造产品时，坚持我们的理念与方法，通过研究、开发与严格的测试提供最可信的试剂给研究人员，并驱动生命科学的发展。我们将持续开发多元的抗体产品，提供科学家探索有限生物医药知识所使用。

GeneTex 联系

任何跟产品相关的问题，我们技术与销售团队将竭诚为您服务；GeneTex支持中英文等多种语言并建构全球经销商网络，任何问题，您可以使用习惯的语言与我们联系。

