

Clark 改良 Bodian 法神经组织染色试剂盒

Clark Modified Bodian Staining Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	<p>Bodian 染色法是美国科学家 David Bodian 1936 年首创的用于观察神经元、轴突和树突内神经原纤维的浸银染色法，其工作原理是把石蜡切片浸于银溶液中，再用还原液使银颗粒沉积于神经纤维上并呈棕色或棕黑色。传统 Bodian 法的染色是在 37℃进行，Clark 改良法将温度改为 60℃，本试剂盒即根据改良方法开发，跟具有下列特点：</p> <p>1. 一站式，用户不需要单独购买和配制各种溶液。</p> <p>2. 降低了背景色深，减轻了血管和胶原纤维的共染现象，便于观察神经纤维。</p> <p>3. 染色和还原时间更短，降低了脱片现象。</p> <p>4. 本试剂盒可用于细胞涂片、切片和实体组织的显色检测。</p> <p>5. 产品稳定性好、可以长期保存、不易产生沉淀。</p> <p>6. 本规格足够进行 100 次切片的染色（不含切片制备和脱蜡封固等试剂），本产品只能用于科研。</p>																																				
规格及成分		<table><tr><th>成份</th><th>编号</th><th>大纸盒包装</th></tr><tr><td>蛋白银干粉</td><td>160374a</td><td>1 克（棕色瓶）</td></tr><tr><td>铜箔(5×10cm)</td><td>160374b</td><td>10 张(0.5g/张)</td></tr><tr><td>还原液成分一</td><td>160374c1</td><td>5g</td></tr><tr><td>还原液成分二</td><td>160374c2</td><td>1g（棕色管）</td></tr><tr><td>氯化金（干粉）</td><td>160374d</td><td>1g（密封玻璃管）</td></tr><tr><td>草酸（干粉）</td><td>160374e</td><td>2g</td></tr><tr><td>固定剂（干粉）</td><td>160374f</td><td>5g</td></tr><tr><td>10mL 空塑料瓶</td><td>无</td><td>1 个</td></tr><tr><td>125mL 空塑料瓶</td><td>无</td><td>3 个</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>160374sc</td><td>1 份</td></tr></table>	成份	编号	大纸盒包装	蛋白银干粉	160374a	1 克（棕色瓶）	铜箔(5×10cm)	160374b	10 张(0.5g/张)	还原液成分一	160374c1	5g	还原液成分二	160374c2	1g（棕色管）	氯化金（干粉）	160374d	1g（密封玻璃管）	草酸（干粉）	160374e	2g	固定剂（干粉）	160374f	5g	10mL 空塑料瓶	无	1 个	125mL 空塑料瓶	无	3 个	使用手册	160374sc	1 份		
成份	编号	大纸盒包装																																			
蛋白银干粉	160374a	1 克（棕色瓶）																																			
铜箔(5×10cm)	160374b	10 张(0.5g/张)																																			
还原液成分一	160374c1	5g																																			
还原液成分二	160374c2	1g（棕色管）																																			
氯化金（干粉）	160374d	1g（密封玻璃管）																																			
草酸（干粉）	160374e	2g																																			
固定剂（干粉）	160374f	5g																																			
10mL 空塑料瓶	无	1 个																																			
125mL 空塑料瓶	无	3 个																																			
使用手册	160374sc	1 份																																			
运输及保存	常温运输和保存，有效期一年。																																				
自备试剂	蒸馏水、载玻片、显微镜																																				
使用方法	<p>一：准备工作</p> <p>1. 配制蛋白银溶液（以配制 10mL 为例，足够 10 张切片）：在干净的培养细菌的玻璃培养皿中加入 10mL 蒸馏水，再将蛋白银研磨成粉，称取 0.1g 然后慢慢抖入到培养皿中，让蛋白银干粉在静止状态下缓慢溶解进入水中，期间不要摇晃，直到彻底溶解。蛋白银溶液必须现配现用。</p> <p>2. 配制还原液（以配制 10mL 为例，足够 10 张切片）：称 0.5g 还原液成分一和 0.1g 还原液成分二，加自备蒸馏水 10mL 溶解即可。此溶液不能保存后再使</p>																																				

用，必须现配现用。本试剂盒提供的 10mL 试剂瓶可以反复使用。

3. 配制氯化金 1%溶液：在本试剂盒提供的 125mL 塑料瓶中加入 100mL 自备蒸馏水，再加入 1g 氯化金溶解待用。
4. 配制草酸溶液：在本试剂盒提供的 125mL 塑料瓶中加入 100mL 自备蒸馏水，再加入 2g 草酸溶解待用。
5. 配制固定液：在本试剂盒提供的 125mL 塑料瓶中加入 100mL 自备蒸馏水，再加入 5g 固定剂溶解待用。

二、切片的染色

6. 固定组织并制备厚度为 10-15um 的切片。制备切片时最好使用 Bodian 专用固定液（甲醛原液 5mL、冰乙酸 5mL、80%乙醇 90mL），但本染色法也跟其他常用的各种固定液兼容。本试剂盒不提供固定液。
7. 将切片脱蜡至水。
8. 在 Coplin 染色缸中加入 10mL 蛋白银溶液，然后加入一张新鲜处理的铜箔（处理方法：在干净的培养细菌的玻璃培养皿中加入 7mL 水和 3mL 自备硝酸，混匀，用镊子将一片铜箔（约 0.5g）浸入到硝酸溶液中，硝酸溶液将去其表面的氧化层，当铜箔表面变成金黄色时用镊子取出铜箔并迅速用自来水冲洗干净，折叠到适当大小并放入到装有蛋白银溶液的 Coplin 染色缸底部），然后放入切片，将染色缸密封后放 60℃温箱内染色 4~16 小时（或 37℃24-48 小时）。如果选择 60℃染色，最好每 1 小时肉眼检测一次，当切片呈金棕色时即停止染色。如染色时间太短，只有较粗的纤维可被轻微的染上，如果染色过头会产生过深背景。
9. 在蒸馏水内稍洗一下，把附着在载玻片和切片表面的染料去掉。洗的时间不宜太长，否则会把染色去掉，只留下已被浸染的粗纤维。
10. 在新制备的还原液中还原 2-3 分钟。
11. 用蒸馏水彻底洗去还原液。
12. 在 1mL1%氯化金溶液加 1.5uL 冰乙酸，混匀。将切片放入此 1%氯化金溶液中调色 10 分钟。
13. 用蒸馏水洗净。
14. 如果此时切片呈淡紫色或蓝色则跳过此步，如果还不呈淡紫色，则将切片放入到草酸溶液中 2-5 分钟，直到切片呈浅紫色或蓝色时取出。
15. 用自来水冲洗切片 5 分钟。
16. 将切片放在固定液中固定 5 分钟。
17. 自来水洗净切片。

	<p>18. 对切片进行梯度酒精脱水、二甲苯透明和中性树胶封固（本试剂盒不含相关试剂）。</p> <p>19. 显微观察切片：轴突、神经元纤维将呈现黑色或紫黑色。</p>
关联产品	Bodian 蛋白银反应法特殊细胞染色试剂盒（160442）

20181128dx