天净沙系列

CAT#:4-110302

常温运输和保存

天净沙

神经组织切片染色试剂盒（改良 Bielschowsky 法）

Nerve Fiber Staining Kit (Bielschewsky Modified Method)

使用手册 V1.2

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

Bielschowsky 改良镀银染色法基本原理为固定后的神经组织和切片浸染于银溶液中，再用还原剂处理，使银颗粒沉着在神经纤维上并使之呈现深棕色或黑色。此方法可以用于 Alzheimer 疾病和其他神经性疾病的研究。本产品就是基于上述原理开发，它具有下列特点：

1. 一站式、用户不需要单独配制每种成分。
2. 适用于石蜡包埋切片和冷冻切片。
3. 本方法着色缓慢，更容易控制染色进度，避免了常规方法容易染色过度，还需要调色的弊端。
4. 对结缔组织的胶原纤维染色淡，可有效避免胶原纤维对神经纤维染色的干扰。
5. 本产品足够 250 张切片染色。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装
神经组织切片染色剂 A	4-110302a	50 g	250 mL 棕塑瓶
神经组织切片染色液 B 浓缩液	4-110302b	250 mL	250 mL 本色瓶
250 mL 本色塑料瓶	4-110302c	1 个	无
神经组织切片染色液 C (25-28%)	4-110302d	50 mL	60 mL 本色瓶
神经组织切片染色固定剂	4-110302e	12.5 g	250 mL 本色瓶
使用手册	4-110302sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期一年。

自备试剂

载玻片、蒸馏水、无水乙醇、显微镜

使用方法

一、注意事项：由于本试剂盒是银染试剂，因此必须使用酸洗过的、非常干净的玻璃容器、玻璃染色缸或玻璃脱色缸，所用试剂需要避免与任何金属器皿接触。

二、切片的准备（本试剂盒不含相关试剂）

1. 石蜡包埋切片：用 10%中性福尔马林固定组织，然后制备厚度为 8-15 μm 的石蜡切片。染色前按常规方法脱蜡到水洗步骤，然后直接进入第 6 步。
2. 冰冻切片：用新鲜组织制备厚度为 20-40 μm 的冷冻切片。把切片从冷箱中取出，自然凉干或冷风机吹干，然后浸入乙醇乙醚混合液（无水乙醇:乙醚=1:1）稍洗，在 0.5%火棉胶溶液(以上述乙醇乙醚混合液为溶剂）中浸泡 30 秒，取出后抹去切片底面多余的火棉胶液。将切片放入 80%乙醇中 10 分钟，蒸馏水洗 1～2 分钟，然后直接用于染色。火棉胶处理可以防止组织在后续处理时从

切片上脱落。

三、配制染色工作液

3. 配制染色液 A：在装有神经组织切片染色剂 A 的瓶中，加入 250 mL 蒸馏水，溶解混匀得到染色液 A。未用完的放 2-8℃保存。
4. 配制染色液 B：在本试剂盒提供的 250 mL 空瓶中，加入神经组织切片染色液 B 浓缩液 50 mL，再加入 200 mL 蒸馏水，混匀得到染色液 B。未用完的放 2-8℃保存。
5. 固定液：在装有神经组织切片染色固定剂的瓶中加入 250 mL 蒸馏水，溶解混匀，得到固定液。未用完的放 2-8℃保存。

四、染色步骤

6. 将染色液 A 装入 Coplin 缸中，放 37℃预热。
7. 将切片放入预热的染色液 A 中浸染 15 分钟。染色液 A 需要保留，后续会使用。
8. 将切片用蒸馏水洗 3～5 分钟。
9. 将切片放入染色液 B 中 2-4 次，每次 1 分钟，然后观察切片颜色，如果切片没有变成黄色（对厚度为 10 μm 左右的切片）或褐色（对厚度为 30 μm 左右的切片），则再新的染色液 B 中处理（可将溶液 B 装入 4 个染色缸，然后依次将切片放入）。如果切片变成黄色或褐色，则停止。
10. 用蒸馏水洗涤切片 3～5 分钟。
11. 将切片放入新鲜配制的氨银工作液（配法见下）中染色 60 秒后开始放在显微镜下观察 30 秒，如果神经纤维没有变成褐色（对厚度为 10 μm 左右的切片）或黑褐色（对厚度为 30 μm 左右的切片），则再染色 60 秒后再观察，直到神经纤维变成褐色或黑褐色，然后迅速进入下一步。

    附：配制氨银工作液的方法：在第 7 步留存的染色液 A 中，按 3 份染色液 A 加 2 份无水乙醇的比例加入自备无水乙醇，混匀后再逐滴加入神经组织切片染色液 C，直到刚形成黑色沉淀又马上迅速溶解（一般 10 mL 混合液需要约 1.5 mL 左右的神经组织切片染色液 C），最后用 pH 试纸或 pH 计测 pH，pH 最好在 10 左右为佳，pH 不到 10 可以适当补加点神经组织切片染色液 C。氨银工作液需要即配即用，没有用完的不能重复使用。
12. 倾去氨银工作液，将切片放入染色液 B 中，直到切片呈棕黑色为止。一般需要 1-2 分钟。在显微镜下观察神经纤维的染色效果。
13. 用蒸馏水洗涤切片 3～5 分钟。
14. 用固定液固定 5 分钟。此步可以防止颜色的褪色。
15. 用蒸馏水洗涤切片 3～5 分钟，然后用滤纸吸干切片周围水分。

	16. 用无水乙醇开始的各种浓度的乙醇梯次脱水。如果是冰冻切片，再用无水乙醇乙醚液（乙醇:乙醚 1:1）去除火棉胶。最后用二甲苯透明，中性树胶封固保存。 17. 染色结果是神经元、轴突和神经纤维呈深紫色至黑色。细胞核或背景呈现黄色或金色。白质和灰质呈现黄棕色。
关联产品	改良 Bodian 神经组织染色试剂盒