天净沙系列

CAT#:4-110501

常温运输和保存

天净沙

神经纤维切片染色试剂盒（Clark 改良 Bodian 法）

Nerve Fiber Staining Kit (Clark Modified Bodian Method)

使用手册 V1.0

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

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，它具有下列特点：

1. 一站式，用户不需要单独购买和配制各种溶液。
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。
3. 染色和还原时间更短，降低了脱片现象。
4. 本试剂盒可用于细胞涂片、切片和实体组织的显色检测。
5. 产品稳定性好、可以长期保存、不易产生沉淀。
6. 本规格足够进行 250 张切片的染色（不含切片制备和脱蜡封固等试剂）。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装
蛋白银（干粉）	4-110501a	2.5 g	10 mL 棕色瓶
铜箔(10×10 cm，1 g/张)	4-110501b	13 张	塑料袋
还原液成分一（干粉）	4-110501c1	12.5 g	10 mL 本色瓶
还原液成分二（干粉）	4-110501c2	2.5 g	10 mL 棕色瓶
氯化金（干粉）	4-110501d	1 g×3	10 mL 密封管
草酸（干粉）	4-110501e	5 g	10 mL 本色瓶
固定剂（干粉）	4-110501f	12.5 g	15 mL 本色瓶
10 mL 本色塑料瓶	无	1×4 个	无
125 mL 本色塑料瓶	无	1 个	无
使用手册	4-110501sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，氯化金（干粉）4℃避光保存，有效期一年。

自备试剂

硝酸、Bodian 专用固定液、冰乙酸、蒸馏水、显微镜、Coplin 染色缸

使用方法

一：准备工作

1. 配制蛋白银溶液（以配制 10 mL 为例，10 mL 足够 10 张切片）：在干净的培养细菌的玻璃培养皿中加入 10 mL 蒸馏水，再将蛋白银研磨成粉，称取 0.1 g 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。
2. 配制还原液（以配制 10 mL 为例，10 mL 足够 10 张切片）：称 0.5 g 还原液成

分一和 0.1 g 还原液成分二，加自备蒸馏水 10 mL 溶解即可。此溶液必须现配现用。本试剂盒提供的 10 mL 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 125 mL 塑料瓶中加入 100 mL 自备蒸馏水，再加入 1 g 氯化金溶解待用。由于氯化金吸湿性非常强，一旦打开包装瓶，必须一次全部溶解。可以分装成小份，每份 10 mL，冻存，每次只取 10 mL 使用，10 mL 足够 10 张切片。塑料瓶可以重复使用。
4. 配制草酸溶液：在本试剂盒提供的 10 mL 塑料瓶中加入 10 mL 自备蒸馏水，再加入 0.2 g 草酸溶解待用。10 mL 本溶液足够处理 10 张切片。塑料瓶可以重复使用。
5. 配制固定液：在本试剂盒提供的 10 mL 塑料瓶中加入 10 mL 自备蒸馏水，再加入 0.5 g 固定剂溶解待用。10 mL 本溶液足够处理 10 张切片。塑料瓶可以重复使用。

二、切片的染色

6. 固定组织并制备厚度为 10-15 μm 的切片。制备切片时最好使用自备的 Bodian 专用固定液（甲醛原液 5 mL、冰乙酸 5 mL、80%乙醇 90 mL），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 10 mL 第 1 步新鲜配制的蛋白银溶液，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 7 mL 水和 3 mL 自备硝酸，混匀，用镊子将一片铜箔（使用前先用剪刀将铜箔对半剪开，约 0.5 g）浸入到硝酸溶液中，硝酸溶液将去除其表面的氧化层，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，如果染色过头则会产生过深背景。
9. 用蒸馏水稍洗一下切片，洗去切片表面的染料。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. 把切片放入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 1 mL 1%氯化金溶液中加入 1.5 μL 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。 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）。 19. 显微观察切片：轴突、神经元纤维将呈现黑色或紫黑色。
关联产品	Bodian 蛋白银反应法特殊细胞染色试剂盒

20230419dx