

神经组织（神经纤维）切片染色试剂盒
(Clark 改良 Bodian 法)

使用手册 V1.0

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，跟具有下列特点： 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 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。			
规格及成分	本产品使用大纸盒包装			
	成份	编号	规格	包装材料
	蛋白银（干粉）	4-110501a	2.5 克	10mL 棕色瓶
	铜箔(5×10cm)	4-110501b	25 张(0.5g/张)	塑料袋
	还原液成分一(干粉)	4-110501c1	12.5g	30mL 棕色瓶
	还原液成分二(干粉)	4-110501c2	2.5g	2mL 棕色管
	氯化金（干粉）	4-110501d	2.5g	密封玻璃管
	草酸（干粉）	4-110501e	5g	10mL 本色瓶
	固定剂（干粉）	4-110501f	12.5g	10mL 本色瓶
	10mL 本色塑料瓶	无	4 个	无
	125mL 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，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 10mL 为例，10mL 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。 2. 配制还原液（以配制 10mL 为例，10mL 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。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 10mL，冻存，每次只取 10mL 使用，10mL 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 10mL 塑料瓶中加入 10mL 自备蒸馏水，再加入 0.2g 草酸溶解待用。10mL 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 10mL 塑料瓶中加入 10mL 自备蒸馏水，再加入 0.5g 固定剂溶解待用。10mL 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 10-15um 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 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 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 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 1mL1%氯化金溶液中加入 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。 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