

快速高尔基染色试剂盒（神经元和胶质细胞）

产品货号：BA1808

产品规格：6×125ml/6×250ml

产品简介：

Golgi-Cox浸染法是研究神经元和胶质细胞正常和非正常形态最有效的方法之一。使用Golgi技术，在药物处理过的动物脑中和因神经疾病死亡的病人脑中发现了神经树突和树突微小的形态改变。然而Golgi染色法的不可靠性且费时已成为这种方法广泛应用的障碍。

快速高尔基染色试剂盒（神经元和胶质细胞）是根据Ramón-Moliner, Glaser和Van der Loos所阐述的方法原理设计的。该试剂盒不仅极大地改进并简化了Golgi-Cox技术，而且被证实在显示神经元和胶质细胞，尤其是树突棘的形态细节极为灵敏可靠。乐业生物生产的快速高尔基染色试剂盒已被广泛用于数种动物脑组织染色。

产品组成：

产品名称	6×125ml	6×250ml
溶液A	125ml	250ml
溶液B	125ml	250ml
溶液C	125ml×2	250ml×2
溶液D	125ml	250ml
溶液E	125ml	250ml

需要但未包括在试剂盒里的物品

1. 双蒸水或Milli-Q水
2. 塑料/玻璃管或瓶、琉璃样品回收器、天然毛画笔、滴瓶、塑料镊子
3. 组织学耗材：
 - 明胶包被的显微镜载玻片
 - 盖玻片
 - 染色罐
 - 乙醇
 - 二甲苯
 - 树胶封片剂
 - 光学显微镜

组织制备

使用此试剂盒前必须仔细阅读以下说明！！

- 所用容器（最好为塑料材质）必须用蒸馏水冲洗干净。
 - 当溶液A和溶液B存在时不能使用金属器具。
 - 保持容器密封。
 - 用溶液A和溶液B处理的组织和切片，应该避光。
 - 除非特别指出，以下流程需在室温下完成。
1. 杀死动物之前对实验动物进行深度麻醉。应尽快地从颅骨中取出动物的脑（或死去病人的脑），但操作时必须非常小心以免损伤或压迫组织。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

注意

- 除非完全必要, 不要对动物进行灌注。如果确实需要对动物进行灌注(用4%的多聚甲醛处理不要超过5分钟), 一定不要对组织进行后固定处理。
 - 体积较大的脑部样本包括大鼠脑部应该用锋利的刀片切成大约10mm厚的块状。**重要提示!**
2. 用双蒸水或Milli-Q水快速冲掉组织表面的血液。
 3. 把组织浸泡在由溶液A和B等体积混合的浸渍液中, 室温下黑暗保存两周*。浸泡6个小时以后或次日更换新的浸渍液。

*对于大多数情况浸泡2周是足够的。然而, 不同的组织类型及组织的大小不同可能需要延长或缩短浸泡时间来达到最佳效果。对于每种类型的组织的浸泡时间应该通过试验获得, 但是对于大多数组织浸泡3周是足够的。注意, 延长浸泡时间可能增加染色背景。

注意

- 溶液A和溶液B的混合液至少在用之前24小时配制, 并不能搅拌。
- 采用以上方案则不会产生沉淀是关键。
- 制备好的浸泡液在用之前室温黑暗保存可长达一个月。
- 每m³待研究组织至少用5ml浸泡液。注意用较少的浸泡液可能降低染色的灵敏性和可靠性。
- 为取得最佳结果, 在浸泡期间每周两次对装有组织的容器可轻轻地左右旋涡(一定不要晃动!)几秒钟。

Warning

溶液A和B(含有升汞, 重铬酸钾和铬酸钾)接触皮肤是有毒的, 如果吞咽可能是致命的。实验应该在化学通风橱中完成。当操作这些试剂时应穿戴防护服, 手套和防护面具/眼镜。**不要把溶液A和B的废弃物倒进水槽中!**

把溶液A和B的废弃物收集起来放到一个瓶子中, 致电安全办公室或有执照的专业废物处理服务的部门处理些材料。

4. 转移组织到溶液C中室温黑暗至少72小时(可长达1周)。24小时后或次日至少更换一次溶液。
5. 在-20℃到-22℃的条件下用冷冻切片机将组织切成100-200um厚的薄片, 也可用其它型号的显微镜薄片切片机包括滑动切片机和振动切片机。用样本回收器把样本转移到含有溶液C的明胶包被的显微镜载玻片上。载玻片上多余的溶液用吸管吸走并用滤纸吸干(载玻片上的溶液必须尽可能地吸干否则切片将从载玻片上脱落下来)。切片可以室温下自然风干(不能用电风扇或电热板使其干燥)。为取得最佳结果, 应尽快地完成切片, 制备好的切片如果保存于载玻片盒中, 室温黑暗条件下最长可保存3天。

注意

- 为避免组织受冷冻切片机的损害, 并尽可能地保持细胞形态学, 组织在进行冷冻切片之前应快速冰冻。比如, 组织应按以下描述尽可能地快速冰冻: 把组织放在一个塑料匙中慢慢地浸入含有干冰的异戊烷中预冷(为取得最佳结果, 温度应保持在-70℃以下并且浸入过程用时1分钟, 越慢越好)。组织完全浸入异戊烷之后, 使组织在异戊烷中浸几秒钟, 然后再放置干冰上1分钟以确保组织能很好地冰冻。进行切片之前不要让组织融化。
- 切片机的型号可能会有不同, 但所用的型号确保能切厚的切片(比如100um)。
- 如果冰冻切片机只有一个温度设置, 那么在进行切片之前把温度设置在-22℃至少4个小时。如果有两个温度设置, 那么设置槽内温度比样本温度低1℃。请注意大多数情况下-22℃是最佳的温度, 然而, 为了更顺利地切出切片并没有破碎, 不同型号的切片机和不同的组织可能需要更高或更低的槽内温度。
- 对于用冰冻切片机切片, 以下几点提示是有益的: 1) 用蒸馏水把组织固定于样本盘上, 但必须确保组织没有融化(可以在干冰上完成)。组织可以被固定在任何类型的组织冰冻介质上包括OCT, 但要避免切断介质。不要在OCT中包埋组织, 如果组织确实需要包埋, 用TFM替代OCT。2) 组织固定到样本盘后, 放置组织于干冰上10分钟, 然后立即把固定有样本的样本盘安装到冰冻切片机上, 等5分钟之后进行切片。3) 切好的一些切片(不要使用防卷板), 如果组织温度过低比如切片显示出与刀片平行的裂缝, 先等几分钟再进行下一个切片, 否则可继续切。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

- 浸泡的脑可用琼脂糖或明胶包埋然后用冰冻切片机切片。然而收集切片时（充满切片槽），必须使用溶液C。否则切片易干燥裂纹。
- 如果用滑动切片机切浸泡的组织，样本盘和刀片都需维持在较低的温度（0℃以下）按照操作手册的描述切片固定在含有溶液C的载玻片上是重要的。

VI. 染色步骤

在染色过程中和盖盖玻片之前的任何一步都不要让切片变干

1. 用双蒸水或Milli-Q水冲洗切片两次，每次4分钟。
2. 把切片置于由1份溶液D，1份溶液E和2份的双蒸水或Milli-Q水组成的混合液中10分钟。
比如：溶液D 10ml
溶液E 10ml
双蒸水 20ml

注意

- 工作液最好现配现用，每100ml工作液最多用于100张切片（比如小鼠脑），根据切片的大小。
- 盛有工作液的瓶子或染色罐必须盖好盖子防止试剂蒸发。
- 为取得最佳结果，孵育期间应频繁搅拌工作液。
- 3. 用蒸馏水或Milli-Q水冲洗切片两次，每次4分钟（蒸馏水应频繁更换新的）。
- 4. 用结晶紫或硫堇对切片进行复染（可选步骤）。

注意

- 对于复染，延长步骤3的时间，比如用冲洗4次每次5分钟代替原来的冲洗2次每次4分钟，或者更长的时间。
- 5. 在50%，75%和95%的乙醇中对切片进行脱水，每个浓度梯度脱水4分钟（不要跳过任何一个步骤）。
- 6. 然后在无水乙醇中对切片进行脱水，4次，每次4分钟（不要延长时间）。
- 7. 在二甲苯中透明，3次，每次4分钟，并且用树脂封片剂对盖玻片进行封片。

注意

- 盖玻片之前切片可以暂时存于二甲苯中几个小时。
- 为取得最佳结果，最好用未稀释的封片剂。
- 用Golgi染色的切片无论何时都应避光保存。

注意事项

1. 快速高尔基染色试剂盒（神经元和胶质细胞）仅用于体外研究，不能用于诊断或其它应用。
2. 试剂盒所包含的试剂是有毒的，吸入或接触皮肤是有害的，如果吞咽可能是致命的。不要用嘴吸。避免吸入和接触皮肤和眼睛。如果接触，立即用大量的水冲洗并求助医生。
3. 在化学通风橱下完成实验。操作这些试剂时须穿戴合适的防护服，手套和眼睛和面部防护罩，完成实验之后把手彻底冲洗干净。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com