

## **AR Rapid Golgi Stain Kit**

## **AR 快速高尔基染色试剂盒**

神经元和胶质细胞形态学研究的完整Golgi-Cox 染色体系

仅用于体外研究

不能用于诊断或其它用途

## I. 介绍

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。高尔基染色法示神经组织虽然使用该方法只能看见少数神经元，且稳定性和可重复性差，但这是人们第一次清晰地观察到神经纤维。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。

该试剂盒不需多聚甲醛灌注，不需频繁更换浸染液，不仅极大地改进并简化了Golgi-Cox 技术，提高了实验的重复性和可靠性，已被广泛测试并用于数种动物脑及去世病人的脑组织。

## II. 试剂盒组分

### 室温保存

组分	AP1921S	AP1921M
溶液A	125 ml	250ml
2×溶液B	60 ml	125ml
溶液C	125 ml	250 ml
染色反应瓶	2	2
天然毛画笔	1	1
塑料镊子	1	1
使用手册	1	1

## III. 需要但未包括在试剂盒里的物品

1. 双蒸水或Milli-Q 水
2. 振动切片机
3. 光学显微镜
4. 组织学耗材和试剂：防脱载玻片、盖玻片、玻片架、染色罐、六孔板、塑料吸管、乙醇、二甲苯

#### IV. 安全操作注意事项

1. AR Rapid GolgiStain™ Kit 仅用于体外研究，不能用于诊断或其它应用。
2. 试剂盒所包含有试剂是有毒的，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。

#### V. 试剂准备

2×溶液 B加入等体积去离子水进行稀释

**溶液C有强烈刺激气味，请在通风橱内操作完成**

#### VI. 组织制备

**使用此试剂盒前必须仔细阅读以下说明！！**

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。

##### 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的浸渍液中，室温下黑暗保存10天\*。

\*对于大多数情况浸泡10天是足够的。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10天是足够的。注意，对于皮层等浅层脑组织可以缩短浸泡时间至7天，对于深部核团或大块组织可延长浸泡时间至14天，但是可能增加浅层组织的染色背景。

##### 注意

溶液A接触皮肤是有毒的，如果吞咽可能是致命的。溶液B有易挥发，有刺激性味道，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。

每1 cm<sup>3</sup> 待研究组织至少用10 ml 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。

4. 75%乙醇→95%乙醇→无水乙醇依次浸泡过夜脱水。
5. 室温条件下用振动切片机将组织切成 100-200  $\mu\text{m}$ 厚的薄片（进行切片之前在切片收集槽内放入适量去离子水保证组织块和切片浸没在水中）。用塑料吸管或毛笔将感兴趣的脑片转移至盛有去离子水的脑片回收皿中。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脑片回收皿中，室温条件下最长可保存2天。
6. 用移液枪吸弃脑片回收皿中的去离子水，加入适量溶液B，浸泡30分钟（此时脑片变为黑灰色，为显色过程）。
7. 吸弃溶液B，加入适量去离子水轻柔漂洗5分钟后弃去洗涤液，加入适量溶液C，浸泡10分钟（此时脑片变为半透明并部分卷曲，为正常现象）。
8. 吸弃溶液C，加入适量去离子水轻柔漂洗10分钟，75%乙醇→95%乙醇→无水乙醇依次浸泡30秒，进行脱水（此过程不可让切片变干）。
9. 使用毛笔（试剂盒提供）将无水乙醇中的脑片转移至阳离子包被的显微镜载玻片上，小心展平并晾干（晾干过程中可能出现部分脑片边缘部分卷曲，此时使用毛笔，小心再次展平，一旦乙醇完全挥发，**脑片干透后呈现脆性，不可再次展平**）。
10. 在二甲苯中透明，2次，每次1分钟，并且用树脂封片剂对盖玻片进行封片,显微镜明场下观察树突棘形态和数量。
11. 随机选择树突进行成像。拍照和统计依照盲法进行。树突棘密度的计算方法是从细胞体开始每10  $\mu\text{m}$ 树突一段，计数树突棘。树突棘的形态学根据之前描述的标准分类：“瘦长”形有长颈和小脑袋；“矮胖形”的有一个大脑袋，但没有脖子；“蘑菇”型有一个大脑袋，粗脖子。来自同一处理组的神经元的数值被合并在一起，计算平均值。