

石蜡切片 bielschowsky 法镀银染色实验报告

一、实验原理

Bielschowsky 法镀银染色原理将切片浸染于银溶液中，随后使用还原剂处理，使得银颗粒沉着在轴索的轴浆中，从而呈现出深棕色或黑色的染色效果。这种方法特别适用于神经元和神经纤维的染色，能够清晰地显示神经纤维和神经元的结构，包括树突和轴突等细节。

二、实验器材及试剂

1. 实验器材

名称	厂家	仪器型号
脱水机	武汉俊杰电子有限公司	JT-12S
生物组织自动包埋机	武汉俊杰电子有限公司	JB-P5
石蜡包埋机（冷台）	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
转轮式切片机	徕卡显微系统上海有限公司	HistoCoreBIOCUT
组织摊片机	武汉俊杰电子有限公司	JK-5
烤箱	天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司	GFL125
盖玻片	江苏汇达医疗器械有限公司	710510
载玻片	海门市神鹰实验仪器厂	188109
显微镜	NIKON	ECLIPSE E100
江丰扫描仪	宁波江丰生物信息技术有限公司	KF-PRO-120



2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	杭州宏达化工仪器有限公司	SJ003614
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023418
硝酸银	国药集团化学试剂有限公司	10018461
中性树胶	国药集团化学试剂有限公司	10004160

三、镀银染色实验步骤

1. **石蜡切片脱蜡至水:** 依次将切片放入二甲苯I 12min - 二甲苯II 12min - 无水乙醇I 6min - 95%酒精 6min - 85%酒精 6min, 自来水洗 2min。

2. **硝酸银反应:** 切片浸入 20%硝酸银加盖于暗处反应 20min。

3. **蒸馏水洗** (在此期间配制银氨溶液): 染色第 2 步用过的 20%硝酸银, 逐滴加入氢氧化铵, 边滴边搅拌, 直到开始形成的白色沉淀又消失, 银液变清即为银氨溶液。

4. **银氨液处理:** 切片浸入银氨液作用 15min (在此期间配制稀氨水, 银氨液用于下步配制显影工作液)。稀氨水配制: 蒸馏水 30ml 加氢氧化铵 3 滴。

5. **稀氨水中浸泡:** 切片移入稀氨水中浸泡 (在此期间配制显影工作液)。

显影储备液: 甲醛液 20ml+蒸馏水 100ml+硝酸 1 滴+柠檬酸 0.5g。

显影工作液: 取第 4 步用过的银氨液 30ml, 加入显影储备液 3 滴, 混合均匀, 即配即用不能保存。

6. **显色:** 切片浸入显影工作液中显色, 约 3-7min, 镜下控制显色, 金黄色的背景, 神经纤维呈黑色时即取出。切片浸入第 5 步用过的稀氨水中浸泡 1min。流水冲洗 1min。

7. **去除未反应的银离子:** 5%硫代硫酸钠处理 2min (固定已反应的银盐和除去未反应的银离子)。流水冲洗 5min。

8. **脱水封片:** 将切片依次放入 95%酒精 I 5min -95%酒精 II 5min-无水乙醇I5min - 无水乙醇II5min -二甲苯I5min -二甲苯II5min 中脱水透明, 将切片从二甲苯拿出

来稍晾干，中性树胶封片。

9. 显微镜镜检：图像采集分析。

四、染色结果

神经轴突，神经细胞内原纤维，神经原纤维缠结，老年斑及树突呈黑色，背景金黄色。

五、注意事项

1. 染色用的玻璃缸，在用之前必须用蒸馏水清洗干净，否则易出现沉淀；
2. 显影储备液较稳定，可保存一年；
3. 显影时间要掌握恰当。如显影太快不好控制显色时间，可适当降低显影储备液的比率。如显影不足，轴突等呈黄色；如显影过度，胶原纤维也呈棕黑色。