

一氧化氮合酶染色液

产品简介

细胞中的左旋精氨酸和氧在一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, NOS)的作用下生成一氧化氮和瓜氨酸。还原型辅酶Ⅱ(NADPH)是一氧化氮合酶的辅酶,可将底物脱氢,然后将氢传递给硝基四氮唑蓝(NBT),NBT会被还原成蓝黑色沉淀,该沉淀部位即为NADPH所在部位即NOS部位。

一氧化氮合酶染色液由磷酸盐缓冲、漂洗、孵育、复染等步骤,可用于组织冰冻切片染色,尤其适用于脑组织冰冻切片染色,亦可用于细胞爬片、细胞涂片染色。该染色液仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称	编号	ADS028DE0	ADS028DE1	Storage
		5 × 20ml	5 × 50ml	
试剂(A): Tissue PB buffer		100ml	250ml	RT
试剂(B): Cell PB buffer		50ml	125ml	RT
试剂(C): Wash buffer(6 ×)		20ml	50ml	RT
试剂(D): NOS 孵育液		20ml	50ml	-20°C 避光
试剂(E): 中性红染色液(可选)		20ml	50ml	RT
使用说明书		1 份		

自备材料

- 1、30%蔗糖、蒸馏水
- 2、4%多聚甲醛
- 3、湿盒、恒温箱、显微镜

操作步骤(仅供参考)

(一)脑组织冰冻切片

- 1、动物常规灌注固定,取取脑组织,浸入30%蔗糖溶液,行冰冻切片厚度40μm。
- 2、入 Tissue PB buffer漂洗10min,重复1次。
- 3、用蒸馏水稀释 Wash buffer(6 ×)至1×,切片入1×Wash buffer,室温孵育60min。
- 4、入NOS孵育液,并放入湿盒中,37°C避光孵育3h。
- 5、用蒸馏水稀释Wash buffer(6 ×)至3×,切片入3×Wash buffer,4°C孵育过夜。
- 6、入Tissue PB buffer,漂洗10min,重复1次。

- 7、裱片、晾干。
- 8、可选步骤：入中性红染色液复染1~2min。
- 9、常规脱水、透明、封片、镜检。

(二)细胞爬片

- 1、细胞爬片或甩片用Cell PB buffer 漂洗5min，重复1次。
- 2、4%多聚甲醛室温固定30min。
- 3、入Cell PB buffer漂洗10min，重复1次。
- 4、用蒸馏水稀释 Wash Buffer(6×)至 1×，切片入 1×Wash buffer，室温孵育60min。
- 5、入 NOS 孵育液并放入湿盒中，37℃避光孵育 3h。
- 6、用蒸馏水稀释 Wash Buffer(6×)至 3×，切片入 3×Wash Buffer，4℃孵育过夜。
- 7、按上述脑组织冰冻切片步骤 3~5 操作。
- 8、入 Cell PB Buffer 漂洗 10min，重复 1 次。
- 9、(可选)入中性红染色液复染 1~2min。
- 10、封片，镜检。

染色结果

NOS 部位	蓝黑色
背景	红色(中性红)或淡蓝色

注意事项

- 1、应选择恰当的固定液、固定方法、固定时间，否则会影响酶的活性。
- 2、中性红复染可以更好的显示细胞轮廓，有助于进一步计数阳性细胞率。
- 3、组织切片染色时，可见NOS神经元，类似于Golgi银染，胞体、神经纤维、纤维末梢均可着色。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6个月。低温运输，按要求保存。