精子核蛋白染色液（伊红 - 苯胺蓝法）

产品简介:

正常情况下，与精核 DNA 结合的碱性蛋白（核蛋白）将经历从组蛋白到鱼精蛋白的自然成熟过程，这种成熟后的鱼精蛋白对精子基因 (DNA) 具有特殊保护作用，组蛋白被鱼精蛋白逐渐取代的过程称之为精子核蛋白组型转换，这种组型转换具有重要的生理意义。精子核携带着全部来自父方的遗传信息，这些基因必须在受精后才能开始表达。受精前精子基因在鱼精蛋白的特殊保护下，紧密浓集，无任何 DNA 转录作用。但当核蛋白组型转换异常可引起男性不育或胚胎早期夭折流产，其机理为：①精子 DNA 不稳定且易受损伤而难以受孕；②一旦受精，由于核蛋白组型异常，精子核不能正常解聚，从而影响了雌雄原核的融合；③胚胎不能正常发育，造成胚胎夭折而流产。因此，组蛋白的多少是精子成熟度的一个重要指标。

精子核蛋白染色液（伊红 - 苯胺蓝法）的作用原理是酸性条件下，苯胺蓝能特异地与精子核组蛋白富含的赖氨酸残基结合生成紫蓝色化合物，根据着色的深浅来判断精子的成熟程度。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCDA1203 20T	GCDA1203 40T	Storage
试剂 (A): 10× 浓缩洗涤液	10ml	20ml	RT
试剂 (B): 固定液	10ml	20ml	4℃ 避光
试剂 (C): 苯胺蓝染色液	10ml	20ml	RT
试剂 (D): 10× 浓缩洗脱液	10ml	20ml	RT
试剂 (E): 伊红复染液	10ml	20ml	RT
使用说明书	1 份		

自备材料:

1、蒸馏水、新鲜精液样本、梯度乙醇、二甲苯或环保脱蜡透明液、中性树胶

2、 EP 管、吸管或移液器、离心机、恒温箱、防脱载玻片

操作步骤(仅供参考)

1、配制洗涤工作液 :取适量的 10× 浓缩洗涤液，以蒸馏水 10 稀释后即为洗涤工作液。

2、配制洗脱工作液 :取适量的 10× 浓缩洗脱液，以蒸馏水 10 稀释后即为洗脱工作液。

3、取上述液化精液 0.2~0.5ml 置于 EP 管，再加入 1 ~ 1.5ml 洗涤工作液，用吸管或移液器反复吹打数次，室温 2000rpm 离心 5min，弃去上清液，保留管底精子沉淀团，重复该操作 3 次。

4、向第 3 步的 EP 管中加入洗涤工作液约 0.1 ~ 0.2ml，制成混合精子悬液。

5、取上述已制备好的精子悬液 15μl，均匀涂布于防脱载玻片上，自然干燥。

6、在涂有待测精子的涂片区内滴加固定液 2 ~ 3 滴，室温固定 5 ~ 15min，蒸馏水冲洗 5 ~ 10min，并甩去多余水分。

7、在涂片区内滴加苯胺蓝染色液 2 ~ 4 滴，室温染色 5min，蒸馏水冲洗 5min，并甩去多余水份。

8、将载玻片竖直插入已盛有洗脱工作液的反应池中，使待测标本涂片区完全浸没于洗脱工作液中，室温处理 2 ~ 5min。

9、蒸馏水冲洗 1-5min，并甩去多余水分。

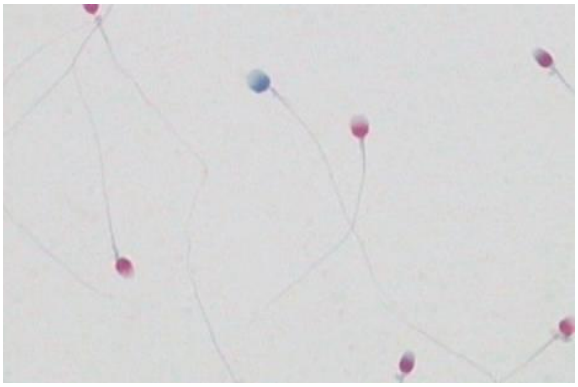
10、在涂片区内滴加复染液 2 ~ 4 滴，室温染色 2 ~ 5min，蒸馏水冲洗 1 ~ 5min。

11、迅速吹干玻片，镜检，如果需要长久保存样本，可将玻片依次置于 70%、80%、95% 和 100% 乙醇中各 2min，二甲苯或 Leagene 脱蜡透明液透明，中性树胶封片。

结果：

含不成熟核蛋白的精子	紫蓝色或深蓝色
含成熟核蛋白的精子	红色（未用伊红复染为浅蓝色或无色）





注意事项：

1、蒸馏水冲洗载玻片时要注意控制水流速度，以免洗脱涂片区内的精子。

2、滴加染液时应完全覆盖涂片区域，并用吸管吹匀。

3、甩去多余水分应防止涂片干燥。

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 个月有效。常温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCDA0184	精子活体染色液 (伊红 - 苯胺黑法)
GCDM0007	瑞氏 - 姬姆萨复合染色液
GCNR0001	DEPC 处理水 (0.1%)
GCTC1167	尿素 (Urea) 检测试剂盒 (脲酶波氏比色法)
GCTO1013	丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (TBA 比色法)