

BDA 皮质脊髓束神经顺行示踪在大鼠脊髓损伤模型中的应用

- 1.麻醉后将头部同定于动物实验用立体定向架卜，切开有额顶头皮，用微型钻磨去颅骨形成 5ram 直径大小网形骨窗
- 2.在手术显微镜下剪开硬脑膜，用微量注射器将 10%BDA 溶液(美国 Molecular Probes 公司产品)缓慢注入右侧的感觉运动区皮质(sensorimotor cortex)内。注射时将微量注射器同定在一 体定向支架上，选择无血管区作为注射点，每个注射点分别在距皮层表面 0. 5、1. 0 和 2. 0mm 处各注药一次，每次剂量 0.5 微升 。每次注射后针头滞留 10min，然后缓慢进退针。每个动物接受 10 个皮层注射点，BDA 注射总量为 2100 微升。
- 3.注射完毕后用薄层明胶海绵覆盖脑表面，缝合头皮。
- 4.2 周后再次麻醉动物，打开胸腔，用 4 生理盐水和 4%多聚甲醛液行心脏灌注后，取出大脑和脊髓组织，置于 4%多聚甲醛液中 4~C 保存，待处理。

BDA 染色显影:

- 1.分别取大脑和各段脊髓组织，脊髓分别取上颈段(C)，胸段(Ts 段)，腰段(L.)，用冰冻切片机连续切片，组织切片厚度为 40 m。
- 2.采用自由漂乳法将组织切片先后在以下溶液中孵化：
含 0. 1% H₂O₂ 的甲醇溶液 10min、含 0. 5% Triton x—IOPBS 溶液 (PBS—T)30min，抗生物素蛋白—生物素—
过氧化物酶复合液(avi(1inIbi0tin—perOxidase，美国 Vector Laboratories 公司产品)1h;用 PBS-T 液冲洗组织切片两次，每次各 10min，最后在二氨基联苯胺(Vector laboratories 公司产品)中显影 5rain。
- 3.上玻片、风干、脱水及盖玻片覆盖。