

骨组织番红固绿染色实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	常州市中威电子仪器有限公司	TSJ-SD
包埋机	常州市中威电子仪器有限公司	BMJ-A
病理切片机	赛默飞世尔科技有限公司	SHANDON FINESSE 325
冻台	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	常州市中威电子仪器有限公司	PHY-III
防脱载玻片	湖北百奥斯生物科技有限公司	BP0510
正置显微镜	奥林巴斯有限公司	CX-31
成像系统	日本滨松光子学株式会社	NanoZoomer®S360

2、主要试剂及货号

名称	厂家	型号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	100092683
环保透明剂	同声科技	
环保封片剂	同声科技	
番红固绿 (骨组织) 染色试剂盒	湖北百奥斯生物科技有限公司	

二、实验步骤

1、石蜡切片脱蜡至水：依次于环保脱蜡剂(1)、环保脱蜡剂(2)、环保脱蜡剂(3)中分别脱蜡 10 分钟，然后经无水乙醇、95%乙醇、85%乙醇、75%乙醇各 5 分钟。蒸馏水洗 3 次。

2、切片滴加固绿染色 1-5 分钟左右。

3、自来水稍洗，洗去多余染料。

湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司

武汉长衍病理科技有限公司

- 4、用弱酸溶液快速洗涤切片 10-15 秒，以便去除残留的固绿（分化至成骨深绿色，软骨绿色较浅或无色）。
- 5、切片滴加番红染液染色 1-5 分钟左右，至软骨着鲜红色。
- 6、入无水乙醇缸（此步骤需随时镜检观察染色程度，此步可以分化多余番红的颜色，在无水乙醇中番红的颜色会慢慢分化，掉色，使成骨部分的绿色显现出来，但是分化过度会导致软骨部分的红色变浅，所以分化的时间不能太长，一般 5-10 分钟左右）。
- 7、分化好后，换无水乙醇快脱 10 秒，透明封片（注意观察片子控制脱水时间，既要脱水彻底，番红又不能脱色）。
- 8、显微镜下镜检，图像采集分析。

三、结果判读

软骨呈鲜红色或橙红色，成骨呈绿色，部分结缔组织也呈红色。

四、注意事项

- 1、切片染色不好需重染时，可用自来水浸泡去除固绿颜色，用盐酸酒精浸泡去除番红颜色，将颜色全脱色后重新染即可。
- 2、染色时间稍有差异，会导致红色和绿色的差异较大，需注意镜下控制两种颜色的程度，自来水中能分化固绿的颜色，刚染完固绿的切片，软骨部位也会有较深的绿色着色，这时需要在自来水中分化至软骨部分绿色变浅或变成无色。但同时也要注意成骨部分的绿色颜色变化，若成骨部分颜色在分化时过浅，则需要重染固绿，再用自来水分化直到软骨部分绿色较浅或无色，成骨部分绿色较深。
- 3、番红 O 使用多次后会产生沉淀且不易着色，需及时更换染液。