石蜡切片天狼猩红实验报告

一、实验器材及试剂

1.实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	俊杰电子有限公司	JJ-12J
包埋机	俊杰电子有限公司	JB-P5
病理切片机	上海徕卡仪器有限公司	RM2016
冻台	俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	浙江省金华市科迪仪器设备有限公司	KD-P
烤箱	上海慧泰仪器制造有限公司	DHG-9140A
载玻片	陕西依科生物技术服务有限公司	YK116
盖玻片	江苏世泰实验器材有限公司	10212432c
正置显微镜	日本尼康	ci-s
扫描仪（白光）	日本滨松	NanoZoomer-SQ
扫描仪（白光、荧光）	3DHISTEC	PannoramicMIDI

2.主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	10009218
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023428
天狼猩红染色试剂盒	陕西依科生物技术服务有限公司	YK2381
中性树胶	陕西依科生物技术服务有限公司	YK1557

二、天狼猩红染色实验原理及步骤

实验原理 天狼猩红是一种很强的酸性阴离子染料,每个分子内含有6个磺酸基，它可以和胶原分子碱性氨基酸反应，利用胶原蛋白聚合及其缠绕螺旋排列不同的特点,天狼星红苦味酸染色后，有较强的双折光现象，较好的提高Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ型胶原的分辨率。天狼星红又是一种长形展开的分子与胶原分子吸附反应极稳定,故染色后不易褪色,具有较强的特异性。因此，它是目前对胶原显示的最好染色。

天狼猩红染色实验步骤

1. **石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯Ⅰ8min-二甲苯Ⅱ8min-无水乙醇Ⅰ 6min-无水乙醇Ⅱ6min-95%酒精6min-85%酒精6min-75%酒精5min-流水冲洗；

冰冻切片复温固定：将冰冻切片从-20℃冰箱取出恢复至室温，用组织固定液固定 15min 后流水冲洗。

2. 媒染：切片浸于天狼猩红 A 液中，置于 65℃烤箱内染 30min；
3. 天狼猩红染色：切片稍甩干水入改良天狼猩红 B 液浸染 2 min；稍水洗，入改良天狼猩红 C 液浸染 1h。
4. 脱水封片：稍水洗切片，依次入三缸无水乙醇各 3-5s 快速漂洗脱水，再放入干净的二甲苯透明 5min，中性树胶封片。
5. 显微镜镜检，图像采集分析。

三、染色结果判读：普通光学显微镜下，胶原纤维呈红色，其余呈淡黄色。在偏振光显微镜下，Ⅰ型纤维紧密排列，显示很强的双折光性，呈黄色或红色的纤维；Ⅱ型纤维，显示弱的双折光，呈多种色彩的疏松网状分布；Ⅲ型纤维，显示弱的双折光，呈绿色的细纤维；Ⅳ型纤维，显示弱的双折光的基膜，呈淡黄色。