

冰冻切片油红 O 染色实验报告

一、实验原理

油红 O 对脂滴的染色机制一般认为是物理学上的溶解作用或吸附作用，借溶解作用使脂质染色，即油红 O 先溶于 60%异丙醇中，然后切片浸入油红 O 染液中时，油红 O 在组织脂质的溶解度较 60%异丙醇中的溶解度高，所以在染色时油红 O 从 60%异丙醇中转移入脂质中，使脂滴显示红色。

二、实验器材及试剂

1. 实验器材

名称	厂家	型号
冰冻切片机	达科为深圳医疗设备有限公司	6250
切片刀	上海徕卡仪器有限公司	Leica819

2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号
苏木素染液	杭州浩克生物技术有限公司	HK1024
甘油明胶封片剂	杭州浩克生物技术有限公司	HK0140
4%多聚甲醛	杭州浩克生物技术有限公司	HK1121
OCT 包埋剂	杭州浩克生物技术有限公司	HK2061
蔗糖	国药集团化学试剂有限公司	57-50-1
油红 O 染液	杭州浩克生物技术有限公司	HK1036



三、实验步骤

1. 冰冻切片制片

1.1 组织固定：新鲜组织固定于 4%多聚甲醛 24h 以上。将组织从固定液取出在通风橱内用手术刀将目的部位组织修平整。

1.2 脱水：将修切好的组织放于 15%的蔗糖溶液内 4℃冰箱脱水沉底后转入 30%的蔗糖溶液内 4℃冰箱脱水沉底。

1.3 OCT 包埋：将脱好水的组织取出用滤纸将表面水稍吸干后切面朝上放于包埋台上，组织周围滴上 OCT 包埋剂，将包埋台放在冰冻切片机的速冻台上速冻包埋，OCT 变白变硬后即可进行切片。

1.4 切片：将包埋台固定于切片机上，先粗切将组织面修切平整后即可开始切片，切片厚 8-10 μ m。将干净的载玻片平放于切出的组织片上方即可将组织贴于载玻片上。
-20℃保存备用。

2. 油红 O 染色步骤

2.1 固定：将冰冻切片复温干燥 10min；细胞爬片 4%多聚甲醛固定 15min，PBS 漂洗 3 次，5min/次。

2.2 染色：入油红 O 工作液孵育 10-15min；细胞爬片破膜 10-15min，PBS 漂洗 3 次，5min/次，入油红 O 工作液 37℃染色 1-2h。

2.3 分化：75%酒精分化 2s，水洗 1min。

2.4 复染细胞核：Harris 苏木素复染 1-2min 左右，自来水洗，1%的盐酸酒精分化数秒，自来水冲洗，氨水返蓝，流水冲洗。

2.5 封片：用纸巾吸去周边水分，甘油明胶封片。



四、结果判读

脂滴呈橘红色至鲜红色，细胞核蓝色。

五、注意事项

1. 由于脂肪易溶于有机溶剂，所以一般用冰冻切片染色来显示。
2. 作脂肪染色的冰冻切片不能太薄，过薄的切片常会使脂质丢失。
3. 苏木素复染时间不能过长。
4. 染色结果不能长期保存，应尽快观察及照相。
5. 整个操作过程中注意动作宜轻柔，不宜动作太大，以免脂肪丢失或移位。
6. 甘油明胶常温下为凝固状，用前 30min 放入 60°C 烘箱或入 60°C 温水促其成液状，其封片后易产生气泡，所以要趁甘油明胶从烘箱中拿出来后尽快封片。
7. 封片后如有气泡不能按压改玻片也不宜强行扯下盖玻片，玻片可入 60-70°C 温水中，让盖玻片自行脱落，然后重新封片，以防脂肪移位。