



## 骨组织石蜡切片番红固绿染色实验报告

### 一、实验原理

骨组织石蜡切片番红固绿染色的原理在于利用番红 O 和固绿染料特性，通过染色将骨组织中的不同成分可视化。番红 O 是一种结合多阴离子的阳离子染料，能够与多糖中的阴离子基团（如硫酸软骨素或硫酸角质素）结合。在骨组织中，番红 O 主要显示软骨组织，通过与软骨中的多糖结合，使得软骨组织呈现红色。这种染色方法间接反映了基质中蛋白多糖的含量和分布。当软骨受到损伤时，软骨中的糖蛋白会释放出来，导致基质成分分布不均匀，从而可能引起番红 O 的淡染或不着色。固绿是一种酸性染料，与软骨下骨胶原纤维结合，不易褪色。在骨组织中，固绿与胶原纤维结合后，使得骨组织呈现绿色或蓝色，与呈现红色的软骨形成鲜明对比，从而有助于区分软骨组织和骨组织。这种染色方法的关键在于番红 O-固绿染色的分化，分化过度可能导致切片不着色，而分化不足则可能导致切片着色过深。通过控制染色的分化程度，可以实现对骨组织中不同成分的精确染色，为病理研究提供重要的形态学信息。

### 二、实验器材及试剂

#### 1. 实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	武汉俊杰电子有限公司	JT-12S
生物组织自动包埋机	武汉俊杰电子有限公司	JB-P5
石蜡包埋机（冷台）	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
转轮式切片机	徕卡显微系统上海有限公司	HistoCoreBIOCUT

组织摊片机	武汉俊杰电子有限公司	JK-5
烤箱	天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司	GFL125
盖玻片	江苏汇达医疗器械有限公司	710510
显微镜	NIKON	ECLIPSE E100
载玻片	海门市神鹰实验仪器厂	188109
江丰扫描仪	宁波江丰生物信息技术有限公司	KF-PRO-120

## 2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	杭州宏达化工仪器有限公司	SJ003614
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023418
番红固绿染色试剂盒	杭州浩克生物技术有限公司	HK1073
盐酸	国药集团化学试剂有限公司	10011018
中性树胶	国药集团化学试剂有限公司	10011018

## 三、实验步骤

- 1. 石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯I 12min-二甲苯II 12min -无水乙醇I 6min- 95%酒精 6min- 85%酒精 6min，自来水洗 2min。
- 2. 固绿染色：**切片进入骨组织固绿染液染色 1-5 min，自来水流水冲洗多余染液至软骨无色，经 1%盐酸快速处理 10-15 s，自来水稍洗。
- 3. 番红染色：**切片进入骨组织番红染液染色 5-10 s，然后经四缸无水乙醇快速脱水，每次 3-5 s，第四次脱水后镜检，至软骨着红色，背景无色。
- 4. 封片：**切片经二甲苯透明 5 min，再经新鲜二甲苯透明 5 min，然后以中性树胶封片。
- 5. 显微镜镜检：**图像采集分析。



#### 四、结果判读

软骨呈红色或橙红色，背景绿色。

#### 五、注意事项

1. 染色过程中，注意番红不能染过，易与绿色杂合呈紫蓝色。
2. 若片子效果不佳，可用分化液分化水洗至颜色褪掉后重染。