

石蜡切片 masson 染色实验报告

一、实验原理

结缔组织狭义上是指其含有的三种纤维：胶原纤维、网状纤维、弹力纤维、而胶原纤维是分布最广、含量最多的一种纤维。Masson 三色染色又称马松染色，是结缔组织染色中最经典的一种方法，是胶原纤维染色权威而经典的技术方法。所谓三色染色通常是指染胞核和能选择性的显示胶原纤维和肌纤维。该法染色原理与阴离子染料分子的大小和组织的渗透有关：分子的大小由分子量来体现，小分子量易穿透结构致密、渗透性低的组织，而大分子量则只能进入结构疏松的、渗透性高的组织。然而，淡绿或苯胺蓝的分子量很大，因此 Masson 染色后肌纤维呈红色，胶原纤维呈绿色或蓝色，主要用于区分胶原纤维和肌纤维。

二、实验器材及试剂

1. 实验器材

名称	厂家	仪器型号
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
组织摊片机	武汉俊杰电子有限公司	JK-5
转轮式切片机	徕卡显微系统上海有限公司	HistoCoreBIOCUT
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
载玻片	海门市神鹰实验仪器厂	188109
显微镜	NIKON	ECLIPSE E100
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
正丁醇	麦克林化学试剂有限公司	71-36-3
masson 染色试剂盒	杭州浩克生物技术有限公司	HK2020
中性树脂胶	国药集团化学试剂有限公司	10004160

三、masson 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I 12min - 二甲苯II 12min - 无水乙醇I 6min - 95%酒精 6min - 85%酒精 6min 蒸馏水洗。
- 2. 重铬酸钾媒染剂过夜:** 切片脱蜡至水后, 入重铬酸钾标准液常温过夜(约17h)。
- 3. 丽春红染色:** masson染色试剂盒内丽春红酸性品红液染5-10 min, 蒸馏水快速漂洗。
- 4. 磷钼酸处理:** masson染色试剂盒内磷钼酸水溶液处理约1-2min。
- 5. 苯胺蓝染色:** 不用水洗, 直接用masson染色试剂盒内苯胺蓝液复染5s。
- 6. 分化:** 三缸1%冰醋酸依次处理5-10s。
- 7. 脱水封片:** 三缸无水乙醇、两缸正丁醇分别快速脱水15-30s, 二甲苯透明, 中性树脂胶封片。
- 8. 显微镜镜检:** 图像采集分析。

四、结果判读

胶原纤维、粘液、软骨呈蓝色; 肌纤维、纤维素和红细胞呈红色。

五、注意事项

1. 丽春红酸性品红液染完后水洗要稍快, 切片洗干净即可;

2. 根据切片的数量对混合的染液进行更换，也可以现配现用；
3. 胶原部分不能是红色或者太红染色程度要控制好，会影响后续着色；
4. 醋酸分化过程中，若是分化过度，胶原蓝色太浅，若分化不足，易与红色叠加呈紫蓝色。