

茜素红染色试剂盒（成骨检测，pH8.3）

说明书修订日期：2015.07.13

Cat number: KGA363-1

Store at 2-8°C for for 3 months

For Research Use Only（科研专用）

一、产品说明

茜素红 S 是一种蒽醌衍生物：9,10-二氢-3,4-二羟基-9,10-二氧代-2-蒽磺酸单钠盐，又称媒介红 3（Mordant Red 3）或茜素磺酸钠。其分子式为 $C_{14}H_7NaO_7S$ ，分子量为 342.25。茜素红和钙离子以螯和方式形成复合物，用以识别组织细胞的钙盐成分。钙盐变化是骨细胞增殖分化和骨组织成骨潜能的标志之一。通过茜素红染色，产生桔红色沉积，但会受到其它金属元素的干扰。

本产品 pH8.3 主要适用于动物原生代或培养细胞的钙沉积和钙化结节检测。广泛用于骨细胞或组织病理生理的研究。

二、试剂组成

组份名称	KGA363-1 10mL	储存条件
茜素红 S 染色液	10mL	2-8°C，避光

注意：

以 6 孔板为例，每孔孵育的染色工作液为 500 μ L，本试剂盒可以做 20tests；以普通切片和 96 孔细胞为例，每张玻片孵育的染色工作液为 100 μ L，本试剂盒可以做 100tests。

三、自备材料

显微镜、载玻片、盖玻片、无水酒精、二甲苯、中性树胶、亮绿复染液、70%乙醇固定液（不含钙）

四、样本处理

1、6 孔板培养细胞爬片：

去除培养基，1×PBS（pH7.2，不含钙镁）洗涤细胞爬片 2 次，70%乙醇室温固定细胞 60min，去除固定液，1×PBS（pH7.2，不含钙镁）洗涤细胞爬片 2 次后待用。（注意：本步骤的固定液也可用 4%多聚甲醛来替代，室温 15-30min。）

2、冰冻切片：

冰冻切片，室温平衡，1×PBS（pH7.2，不含钙镁）洗涤 2 次，待用。100%甲醇固定 1-2 分钟。

3、石蜡切片：

① **脱蜡：**二甲苯中脱蜡 5-10 分钟。再换用新鲜的二甲苯，脱蜡 5-10 分钟。

② **梯度入水：**95%、70%、30%乙醇各 2 分钟，蒸馏水 2 分钟。

五、染色

1、茜素红 S 染色

① 以茜素红染色液覆盖样本，37°C 避光孵育至少 60 分钟。（如果颜色偏淡，可以适当延长长时间。）

② 取出染色玻片，双蒸水缓慢冲洗玻片 3-5 分钟。（注意：细胞爬片样本建议多用 1×PBS，pH7.2，不含钙镁洗涤 5 次，每次 2min，直接显微镜拍照观察。）

2、亮绿染色（组织样本可选步骤）

滴加 1-2 滴亮绿染色液覆盖样本，染色 20-30S。

3、分化透明处理（组织样本可选步骤）

- ① 盐酸-酒精分化液每片 100 μ L 覆盖样本 10S 后去除。
- ② 无水酒精脱水，二甲苯透明。
- ③ 封片剂封片后，显微镜观察，拍照。

六、染色结果

钙沉积阳性细胞呈现桔红色；

胞浆及胶原纤维呈现绿色（可选）。