**软骨染色液(番红O-固绿法)步骤及注意事项**

**【产品简介】 ：**

软骨组织由软骨细胞、软骨基质和纤维组成，软骨组织及其周围的软骨膜构成软骨。软骨根据基质内所含纤维素成分不同分为透明软骨、弹性软骨、纤维软骨。软骨染色方法有很多种，例如甲苯胺蓝法、阿利新蓝法、番红O法等。

番红0软骨染色的原理在于嗜碱性的软骨与碱性染料番红O结合呈现红色。番红O是一种结合多阴离子的阳离子染料，其显示软骨组织是基于阳离子染料与多糖中阴离子基团（硫酸软骨素或硫酸角质素）结合。

**【自备材料】 ：**

10%福尔马林固定液、脱钙液、蒸馏水、Weigert铁苏木素、系列乙醇等。

操作步骤（仅供参考）：

1.标本的处理：10%福尔马林固定、脱钙、石蜡切片。

2.常规脱蜡至水。

3. （可选）入新鲜配制的Weigert染液染色3-5min。

4. （可选）酸性乙醇分化液分化15s。

5.蒸馏水洗10min。

6.（可选）在固绿染色液内浸染5min，蒸馏水洗1min。

7.入Safranin O stain内浸染1-2min，蒸馏水洗1min。

8.分别用95%乙醇、无水乙醇脱水。

9.二甲苯透明，光学树脂封固。

**【染色结果】 ：**

|  |  |
| --- | --- |
| 软骨基质 | 深红色 |
| 软骨细胞核 | 蓝色 |
| 软骨细胞浆 | 红色 |
| 细胞核 | 蓝色 |

**【注意事项】 ：**

1. 需要显示细胞核时，尽量采用铁苏木素染色，其着色力强、色调浓，一般的苏木素着色能力不强。
2. Weigert苏木素染液不能预先配制后放置，配制好后一般24h失去染色能力。需现用现配。
3. 切片在Safranin O stain中染色不宜过长，否则易导致背景的深红色不易分化掉。
4. Safranin O stain染色后不宜在低浓度乙醇中脱水，否则易褪色。
5. 95%乙醇脱水时间不宜过长。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。