

石蜡切片 EVG 染色实验报告

一、实验原理

EVG 染色的原理是利用两种染色剂：伊红染色产生红色染色，用于染色胶原纤维。苏木素-光亮黄染色产生黄色染色，用于染色弹性纤维，弹力纤维与染液中间苯二酚的酚基形成氢键而使弹力纤维成蓝黑色。在染色后使用酸性酒精使染色剂与组织中的蛋白质结合，弹性纤维呈现为深棕色或蓝黑色，VG 染色作为对比染色，使得胶原纤维则呈现为粉红色或红色。

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
EVG 染液套装	杭州浩克生物技术有限公司	HK1024
中性树脂胶	国药集团化学试剂有限公司	10004160

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. EVG 染色:** EVG 染液 A: EVG 染液 B: EVG 染液 C5: 2: 2 混合成 EVG 染液 (提前 2h 配置), 切片入 EVG 染液染 5min, 自来水冲洗。
- 3. 背景分化:** EVG 染液 B 稀释一倍后稍分化一下, 自来水洗一下, 如此反复操作, 在显微镜下控制分化程度, 至弹力纤维呈紫黑色, 背景呈灰白色近无色。
- 4. 复染 VG:** EVG 染液 E 9ml 加入 EVG 染液 D 1ml 混合成 VG 染液 (按比例配制用多少配多少), 染 1-3min (染色时间视组织中弹力纤维成分而定, 染色时间过短胶原颜色浅, 染色时间过长弹力纤维会褪色), 快速水洗, 无水乙醇三缸快速脱水。
- 5. 透明封片:** 两缸干净的二甲苯透明各 20s、5min (二甲苯专用不与其他二甲苯共用), 中性树脂胶湿封。
- 6. 显微镜镜检:** 图像采集分析。

四、结果判读

弹性纤维呈紫黑色, 胶原纤维为红色, 背景为黄色。



五、注意事项

分化时，至弹性纤维呈紫黑色的细丝状即可，不可过度分化，弹性纤维褪色，若分化不足，则 VG 复染后效果不佳。