

石蜡切片 Von-kossa 染色实验报告

一、实验原理

VonKossa 染色法原理是将矿化基质中的磷酸盐(钙)、碳酸盐(钙)转变为磷酸银、碳酸银，然后用日光、紫外线或强还原剂使其还原为黑色的金属银。可用以观察组织中钙的分部和钙含量多少的检测。

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

硝酸银	国药集团化学试剂有限公司	10018461
硫代硫酸钠	MACKLIN	7772-98-7
核固红染液	杭州浩克生物技术有限公司	HK1055

三、镀银染色实验步骤

- 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 6min - 95%酒精 6min - 85%酒精 6min - 蒸馏水洗。
- 2. 硝酸银反应:** 切片用阻水笔画圈将组织圈起来, 滴加 2%硝酸银溶液, 放入透明湿盒加盖, 用紫外灯照射 1~2 小时, 蒸馏水洗 1 分钟。
- 3. 硫代硫酸钠反应:** 5%硫代硫酸钠浸泡 5 分钟, 蒸馏水洗 1 分钟
- 4. 染核:** 核固红染液染核 3 到 5 分钟
- 5. 脱水封片:** 将切片依次放入 95%酒精 I 5min - 95%酒精 II 5min - 无水乙醇I 5min - 无水乙醇II 5min - 二甲苯I 5min - 二甲苯II 5min 中脱水透明, 将切片从二甲苯拿出来稍晾干, 中性树胶封片。
- 6. 显微镜镜检:** 图像采集分析。

四、染色结果判读

钙盐沉积区域呈黑色, 胞核呈深红色, 背景红色。

五、注意事项

1. 硝酸银溶液滴染前, 玻片必须用蒸馏水洗两次以上;
2. 如果没有紫外灯, 也可以用强太阳光照射。