天净沙系列

CAT#:4-120702

常温运输和保存

天净沙

真菌切片染色试剂盒（Grocott 六胺银-核固红-亮绿法）

Fungal Staining Kit (Grocott Silver Methenamine-Nuclear Fast Red-Brilliant Green Method)

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本试产品是基于 Grocott 六胺银-核固红-亮绿法开发的真菌切片染色试剂盒，其原理是用铬酸氧化真菌内多糖化合物而暴露醛基，然后醛基还原六胺银液成为黑色的金属银。之后用氯化金用来调色，把金属银转变为更稳定的金属银，并可排除组织中的黄色色调，最后硫代硫酸钠液对已显色的银盐起固定作用并除去未反应的银离子。它具有下列特点：

1. 操作简单、可重复性高。
2. 对曲菌的显示较好。
3. 一站式，用户不需要单独购买和配制各种溶液。
4. 能够有效维持组织形态结构，适合多种实验需求。
5. 本产品有时也可把网状纤维和纤维素细丝变黑，因此在诊断过程中注意勿与真菌混。
6. 本规格足够进行 250 张切片的固定。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大纸盒包装

成分	编号	规格	包装
5%铬酸溶液	C7738-94-5A	250 mL	250 mL 本色瓶
1%亚硫酸钠溶液	C7757-83-7A	250 mL	250 mL 本色瓶
0.2%氯化金溶液	C13453-07-1A	250 mL	250 mL 本色瓶
2%硫代硫酸钠溶液	C7772-98-7A	250 mL	250 mL 本色瓶
3%六亚甲基四胺溶液	C100-97-0A	120 mL	125 mL 棕色瓶
5%硝酸银溶液	C7761-88-8A	8 mL	10 mL 本色瓶
5%四硼酸钠溶液	C1303-96-4A	12 mL	15 mL 本色瓶
Grocott 真菌切片核固红染液	4-120702a	250 mL	250 mL 棕色瓶
Grocott 真菌切片亮绿染液	4-120702n	250 mL	250 mL 棕色瓶
使用手册	4-120702sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，5%硝酸银溶需 4℃保存有效期一年。

自备试剂

组织样品，蒸馏水，70%乙醇，无水乙醇，二甲苯，中性树胶。

使用方法

一：实验前准备

1. 制备六胺银原液：3%六亚甲基四胺溶液与 5%硝酸银溶液按 20:1 的体积比混合（如 100 mL 3%六亚甲基四胺溶液与 5 mL 5%硝酸银溶液混合），混合后呈现乳白色之后瞬间透明。此溶液现用现配。
2. 配制六胺银硼砂染色液：六胺银原液、蒸馏水和 5%四硼酸钠溶液按体积比

	25:25:2 的比例混合（如 100 mL 六胺银原液、100 mL 蒸馏水和 8 mL 四硼酸钠溶液混合）得六胺银硼砂染色液，此溶液现用现配。 **二：染色** 3. 切片脱蜡至水。经 Helly 液固定的组织切片可先脱汞。 4. 氧化切片于 5%铬酸溶液 1 h。 5. 流水清洗 5min。 6. 浸入 1%亚硫酸钠溶液 1 min，除掉铬酸。 7. 自来水清洗 5 min。 8. 蒸馏水清洗 3 次 9. 放入六胺银硼砂液染色 1 h（于 45~50℃温箱内），切片呈浅棕色为止。在镜下观察如过染则结缔组织着色太深。注：当切片置入六胺银工作液 60 min 时菌体才开始淡淡地显影。因此在 60 min 左右即取出用蒸馏水洗后置镜下观察有否菌体出现，以后每隔 10 min 取出镜检控制为准。 10. 蒸馏水洗 3 次。 11. 用 0.2%氯化金溶液调色 5 min。 12. 蒸馏水洗。 13. 固定于 2%硫代硫酸钠溶液 3min。 14. 自来水洗。 15. 入核固红染液染细胞核 10min。 16. 自来水洗，蒸馏水洗。 17. 入亮绿染液 30 s。 18. 用蒸馏水快速稍洗。 19. 无水乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封固。 20. 结果观察：各种真菌均被着色，菌丝和孢子呈明显的黑褐色，抗酸菌也呈黑褐色，粘液呈紫色，细胞核呈红色。注：在低倍镜下菌体不宜着色太黑，否则在高倍镜下观察时则不够清晰透亮（尤其菌体密集成堆的地方较为明显）。
关联产品	真菌切片染色试剂盒（Gridley PAS-皂黄法）