天净沙系列

CAT#:4-128502B

常温运输和保存

金属离子染色试剂盒（茜素红 S 法）

Metal Ion Staining Kit (Alizarin Red S Method)

使用手册 V1.0

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

茜素红 S（alizarin red S；sodium alizarin sulfonate）是橙黄色的针状体，CAS 号是 130-22-3，分子式为 C14H7NaO7H2O，分子量为 360.28，中文别名是茜素红、茜素磺酸钠、茜素 S、酸性媒介茜素红、酸性媒介红 S-80（Acid Mordnat Reds-80）和 C.I.媒介红 3（C.I.Mordant Red 3）。它溶于水，微溶于醇，不溶于氯仿和苯。1%水溶液 pH 为 2.15。由茜素经发烟硫酸磺化，然后转变为钠盐制得。茜素红能和许多金属离子生成稳定的红色络色物，在分析中常用作金属指示剂；也可以作为酸碱指示剂，其第一变色范围 pH 值 3.7（黄）～5.2（紫），第二变色范围 pH 值 10.1（紫）～12.0（浅黄）。

茜素红 S（Alizarin Red S）染色试剂中的茜素红 S 可通过与钙离子和其他金属离子发生螯和反应而形成可以在显微镜下直接观察的带颜色的复合物。本产品就是基于此原理而开发，它具有下列特点：

1． 即开即用，用户不需要单独准备各种溶液。

2． 操作简捷，性能稳定，显色清晰。

3． 可用于组织切片中的钙沉积，尤其适用于骨细胞或组织的病理和生理研究。

4． 可用于检测动物原生代或培养细胞的钙沉积。

5． 本产品为通用型，不但用于钙离子的检测，还可用于 $FeCl_2$ 和 $CdCl_2$ 的检测。

6． 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
茜素红 S 染色液	4-128502B-a	100 mL	125 mL 棕色瓶
茜素红 S pH 调节液	4-128502B-b	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	sc4-128502B	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期一年。

自备试剂

光学显微镜、乙醇、丙酮、二甲苯。

使用方法

注意：试剂具有腐蚀性，操作时须带手套。实验时可以用含金属离子的切片或培养细胞作为阳性对照。可溶性蛋白会干扰茜素红 S 与钙的相互作用，所以样品必须经过固定处理（以去除细胞中的可溶性蛋白）。对培养细胞，还必须洗涤去掉培养基（含血清等蛋白成分）。茜素红 S 与钙的螯合反应需要在水相发生，因此加入茜素红 S 前最好用水溶液洗涤掉前面操作所残留的有机溶剂。

一：茜素红 S 染色液的准备

1． 根据所需检查的金属离子按下表选择茜素红 S 染色液的最佳 pH。

金属离子	最佳 pH	呈现的颜色

$CaCl_2$，$CaPO_4$、$CaCO_3$	4.28-6.75	橙红
$FeCl_2$	5.62-8.05	深紫
$CdCl_2$	5.11-5.78	品红

2. 用茜素红 S pH 调节液将茜素红 S 染色液调到所需的 pH 值。

二：涂片细胞的染色

3. 用自备的缓冲中性福尔马林、福尔马林-乙醇混合液或乙醇作为固定剂固定铺在载玻片上的细胞（本试剂盒不提供上述固定剂）。
4. 将细胞放入 95%乙醇中处理。
5. 将载玻片在空气中干燥。
6. 将载玻片放在装有茜素红 S 染色液的染色缸中染色 1-5 分钟。注意：此步需要密切控制，最好每隔一分钟放在显微镜下检测，最佳时间随样品中盐离子的多少不同而不同。
7. 用蒸馏水洗涤载片一次。
8. 用自备的丙酮浸泡载波片 30 秒。
9. 用自备的丙酮-二甲苯混合液（50:50）浸泡浸泡载波片 15 秒。
10. 肉眼可见红色或紫色（取决于所检查的离子）即可终止染色，放光学显微镜观察。钙沉积阳性细胞将呈现桔红色。

三：石蜡包埋切片的染色

11. 按常规方法进行固定、包埋、切片、脱蜡和水化等操作，直到 70%乙醇处理这步。注意：固定剂最好使用 4%的副甲醛或 10%福尔马林，切片厚度最好在 0.4 μm。本试剂盒不含相关试剂。
12. 将切片浸入蒸馏水中。
13. 将切片浸泡在茜素红 S 染色液中 30 秒-5 分钟，具体时间以肉眼或显微镜下可见桔红色斑点为准。
14. 用滤纸吸尽染色液后浸入自备的丙酮 20 次。
15. 再进入自备的丙酮-二甲苯混合液（50:50）20 次。
16. 最后用自备的二甲苯处理并用封固剂封片。

四：培养细胞的染色（最好是 26 或 6 孔培养板培养的细胞，便于在显微镜下观察）

17. 小心抽去培养液，注意不要吸走细胞。
18. 沿壁上缓慢加入 1-2 mL 自备的 1×PBS 或 HBSS 缓冲液，然后再小心将加入的液体吸出。
19. 每孔中加入自备的无水乙醇直到全部覆盖细胞，室温放置 30 分钟后小心移弃无水乙醇，室温晾干。此步用于固定细胞。也可用 10%甲醛代替无水乙醇，

	但固定时间只需要 15 分钟。 20. 每次洗涤时，先加入蒸馏水，再浸泡 5-10 分钟，然后小心吸走蒸馏水。注意：操作时不要破坏细胞单层。 21. 再重复上步的蒸馏水洗涤两次。共洗涤三次。 22. 每个细胞培养孔中加入 1 mL 茜素红 S 染色液，在室温下孵育至少 20 分钟，最后小心吸走茜素红 S 染色液。 23. 加入 1 mL 蒸馏水，然后小心吸走蒸馏水。此为洗涤步骤。注意：洗涤一定不要震荡以避免形成的钙沉积物脱落。 24. 重复上步操作 3 次（共洗涤 4 次）。 25. 样品可立即用于显微镜检测。有钙沉积的细胞将呈现桔红色。
关联产品	茜素红 S 定量检测试剂盒

20220112dx