天净沙系列

CAT#:4-130601

常温运输和保存

天净沙

核仁切片染色试剂盒（AgNOR 法）

Nucleolus Paraffin Section Staining Kit

使用手册 V1.01

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

AgNOR 是核仁组织区（Nucleolar Organizer Region，NOS）嗜银蛋白，不属于组织蛋白，与核糖体的形成和细胞内蛋白质的合成关系密切，所以 AgNOR 可用来反映核仁结构和功能的改变，对鉴别良、恶性肿瘤有重要价值。本产品就是专门用于 AgNOR 染色的产品，它具有下列特点：

1. 一站式，含有所需主要试剂，不需要单独准备。
2. 显色后 AgNOR 呈棕黑色颗粒。
3. 本产品适用于石蜡包埋切片，冰冻切片和涂片的染色。
4. 本试剂盒可以用于至少 250 次切片显色。
5. 本产品仅限于科研使用，不能用于临床。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
AgNOR 染色试剂成分 1	4-130601a	2 g	5 mL 本色瓶
AgNOR 染色试剂成分 2	4-130601b	1 mL	2 mL 棕玻瓶
AgNOR 染色试剂成分 3	4-130601c	100 g	60 mL 棕色瓶
使用手册	4-130601sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，保存期一年。

自备试剂

双蒸馏水、无水乙醇、醋酸（对涂片）

使用方法

一、配制工作液

配制 AgNOR 染色工作液：以 90 mL 为例，其他体积请按比例增减各成分。本工作液只能新鲜配制，没有完的不能再用。

1. 配制 A 液:在装 2 g AgNOR 染色试剂成分 1 的瓶子中加入 99 mL 双蒸馏水,60℃水浴搅拌至溶，冷却后再加入 1 mL AgNOR 染色试剂成分 2 并摇晃均匀。此为 A 液，没用完的需要-20℃保存。
2. 配制 B 液：在干净的 300-500 mL 玻璃烧杯中加入 100 mL 双蒸馏水，加入 AgNOR 染色试剂成分 3（保留棕色塑料瓶），搅拌溶解，定容到 200 mL，最后倒回保留的 250 mL 棕色塑料瓶中。此为 B 液，没用完的需要-20℃避光保存
3. 配制 AgNOR 染色工作液：临用时将 A 液和 B 液按 1：2 的体积比例加入到染缸中混匀即可。必须现配现用。为了减少误差，最好提前将 A 液、B 液和染缸放 25℃预热，这样使用时现配得到的工作液就直接是 25℃。

二、染色步骤

4. 对石蜡切片：连续石蜡切片厚 3μm，脱蜡至水。双蒸馏水浸洗 2 次。
5. 对冰冻切片：恒冷箱切片机对新鲜的手术标本或冷冻的保存标本,进行切片，厚度

	为 6~8μm，在空气中风干或经冷风吹干，然后用无水乙醇快速固定 3~5min。切片放干后，经 95%、85%、75%乙醇各 2min，再用双蒸馏水洗 2min。 6. 对涂片：将新鲜标本切开后用清洁干燥的载玻片或盖玻片印取标本得到涂片，待自然干燥或冷风吹干后，用自备的乙醇-醋酸(3:1)混合液固定 5min，空气中放干，再入 95%、80%、75%乙醇中各 2min 至水洗,双蒸馏水洗 2 次。 7. 在暗处将切片放入在 25℃预热的染缸中的 AgNOR 染色工作液中，第 20min 后要不断地在显微镜下观察，一旦发现着色就立即进入下一步反应，否则可出现背景较深，甚至出现 AgNOR 颗粒融合现象。由于 AgNOR 反应的染色时间与温度有关，温度高时间就短，温度低时间就长，很难标准化，所以强烈建议此步在 25℃恒温箱中进行。 8. 双蒸水中浸洗 3 次。 9. 用无水乙醇浸洗 2 次脱水。 10. 用二甲苯：石炭酸(4：1)混合液处理 1 min，然后二甲苯透明和中性树胶封固。本染色试剂盒不提供本步所需的相关试剂。 三、染色结果的显微镜观察 11. AgNOR 的计数方法：在计数时，只计算核内的、分散的小黑点数或连接成串珠状或不规则形的小黑点数。银染核仁(AgNu) 若不能看清其中的细小黑点，则可算作一点。若能看清其内的细小黑点时,则计数小黑点的数。 12. AgNOR 的结果需要用 100×油镜观察。细胞核及胞质背景为淡黄色，AgNOR 呈棕黑色颗粒状。有的为黑色细小点状，分散于整个核仁之中；稍大的颗粒，黑色圆形；也有的可见许多细小颗粒集合或融合成不规则团块状。
关联产品	10%甲醛液