

线虫染色液(多色蓝法)

简介:

病原线虫在病组织中可通过挑针直接挑取、漏斗分离或将病组织捣碎分离等方法取得活线虫虫体,为了识别常见线虫,对其形态和结构做一般性观察,可以用活体线虫制作临时玻片,为了进一步仔细观察、认识其分类学特征,需将活体线虫杀死和固定,有时还需染色,制成永久性玻片标本,如需观察线虫与寄主组织之间的相互关系,还需要制作寄主和线虫组织的石蜡切片。

线虫染色液(多色蓝法)主要由次甲蓝、乙醇、甘油等组成,经过加热杀死并固定线虫,用多色蓝染色后观察,其染色原理是根据线虫在固定时体内各器官的氢离子浓度和生理状态的不同,本方法能改较好的研究线虫的不同器官结构。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称 \ 编号	R30439 50ml	R30439 100ml	Storage
试剂(A): 线虫脱水剂 I	25ml	50ml	RT
试剂(B): 线虫脱水剂 II	25ml	50ml	RT
试剂(C): 多色蓝染色液	5ml	10ml	RT 避光
说明书	一份		

自备材料:

- 1、蒸馏水、4%福尔马林固定液
- 2、载玻片、显微镜
- 3、酒精灯、水浴锅、恒温箱

操作步骤(仅供参考):

1、杀死：一般采用加热固定的方法，先在载玻片上滴加一滴蒸馏水，挑取一部分线虫在载玻片上，在酒精灯上加热 5~6s，同时不断转动玻片，并随时在显微镜下观察；当线虫扭曲忽伸直时立即停止加热，否则会破坏线虫内部器官；亦可把线虫放入 1 滴水中，再加入 0.5%热乙酸杀死线虫；也可以用 0.1%碘液杀死线虫（线虫悬浮液与碘液等量混合，数秒钟即可杀死线虫）。

2、固定：采用 TAF 固定液或 4%福尔马林固定液。

3、(备选)脱水：将固定好的线虫置于盛有 0.5ml 线虫脱水剂I的小玻皿中，将玻皿放在盛有过量 95%乙醇的密闭容器中，放入 35~40°C恒温箱内，孵育 12h 以上，玻皿内加入少量线虫脱水剂II，然后将玻皿放在半密闭培养皿中，置于 40°C恒温箱，待脱水剂中的乙醇完全蒸发后(一般需要 2-3h)，将处理好的线虫置于无水甘油内，可长期保存。

4、将经固定的线虫，直接移入 3ml 蒸馏水和 3~5 滴多色蓝染色液的离心管中，在 55~60°C水浴加热染色 3~5min。

5、挑取数条线虫置于放大镜或显微镜下观察，如果已经均匀染成暗紫色，其内部器官几乎看不清楚，则染色程度已经足够；如果还有空隙或染色不均，则要继续延长染色时间。

6、镜检：置于甘油中，加盖玻片观察。

染色结果：

生殖器官、卵原细胞、精原细胞	蓝紫色
细胞核	浅红色
染色体	蓝色-蓝紫色
肠	绿色(不定)
其他器官或细胞	深紫色或深蓝色

注意事项：

- 1、玻片应洁净，无油污。
- 2、线虫的染色标本置于无水甘油中可保存 2~5 个月，之后会逐渐褪色。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

- 3、一般情况下线虫被染成蓝紫色，但并不是所有特征都能染出来。
- 4、固定时不宜用高热火焰固定。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 12 个月有效。

