

福尔根 DNA 染色液

简介:

脱氧核糖核酸(DNA)染色方法有 Feulgen 法、甲基绿-派洛宁法、吖啶橙荧光法等,其中最经典的是 Feulgen 法,该法是一种经典的酶组织化学法。

Feulgen Stain 原理在于 DNA 经温和的弱酸(例如盐酸)水解后,嘌呤碱与脱氧核糖间的糖苷键被打开,并且使脱氧核糖与磷酸间的磷酸酯键断开,在脱氧核糖的一端形成游离的醛基。醛基在原位与 Schiff 试剂结合,形成紫红色化合物,使细胞内含有 DNA 的部位呈紫红色,紫红色的产生是因为反应产物的分子内有醌基(醌基是一个具有颜色的发色团,所以凡含有 DNA 的部位就呈紫红色,该水解作用不影响核糖-嘌呤结合键,因此 RNA 用此法处理后则分解,所以该法不适用于证明 RNA。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	R20725	Storage
			3 × 50ml	
试剂(A): Schiff Reagent			50ml	4°C 避光
试剂(B): SO ₂ 水	B1: 弱酸溶液		50ml	RT
	B2: 亚硫酸盐溶液		50ml	RT
说明书				一份

自备材料:

- 1、蒸馏水、系列乙醇
- 2、恒温箱

操作步骤(仅供参考):

(一)石蜡切片染色

- 1、组织固定：Carnoy 固定石蜡切片较好，10%福尔马林亦可，不宜采用 Bouin 固定液。
- 2、配制弱酸工作液：按弱酸溶液：蒸馏水=1：4 配制，即取 1 份弱酸溶液、4 份蒸馏水，充分混合，即获得弱酸工作液。
- 3、石蜡切片二甲苯或脱蜡透明液脱蜡至蒸馏水。
- 4、入弱酸工作液室温浸洗一下。
- 5、切片入预热至 60°C 的弱酸工作液，孵育 8min。
- 6、切片入室温的弱酸工作液中冲洗 1min，蒸馏水冲洗。
- 7、切片入 Schiff Reagent，室温避光染色 30~60min。
- 8、在上述染色过程中，配制 SO₂ 水工作液。按弱酸溶液：亚硫酸盐溶液：蒸馏水=1：5：94 配制，即取弱酸溶液 1 份、亚硫酸盐溶液 5 份、蒸馏水 94 份，充分混合，即配即用。
- 9、用新鲜配制的 SO₂ 水工作液洗切片 3 次，每次 90s。
- 10、蒸馏水中洗净，经系列乙醇脱水，二甲苯或脱蜡透明液透明并封片。

(二)冰冻切片染色

- 1、冰冻切片预处理：取 1 份乙酸、3 份无水乙醇混合即为固定液，固定 10min。
- 2、由无水乙醇脱水—逐级下行—蒸馏水。
- 3、配制弱酸工作液：按弱酸溶液：蒸馏水=1：4 配制，即取 1 份弱酸溶液、4 份蒸馏水，充分混合，即获得弱酸工作液。
- 4、余下步骤同上述石蜡切片染色。

染色结果：

细胞核内 DNA	红紫色
----------	-----

阴性对照：将同样切片经上述步骤，只有步骤 5 改为入室温弱酸工作液，孵育 15min。结果为细胞核 DNA 阴性。

注意事项:

1、水解时间很重要，并且应使用恰当的固定时间。不同的固定液水解时间不一样。

固定液	水解时间(min)
Carnoy 固定液	8min
Helly 固定液	8min
Susa 固定液	18min
福尔马林	8min
Zenker 液	5min

2、注意 Schiff Reagent 的纯净程度，若变浅粉红亦可考虑使用，颜色变红则弃用。

3、去除切片上多余 Schiff Reagent 的方法以 SO₂ 水洗为好。

4、应做阴性对照试验。

有效期: 6个月有效。