EDTA 脱钙液(15%)

简介：

在组织切过程中，一些组织内含有骨质或钙化灶时，含钙的组织不宜直接用石蜡包埋切片。这是因为钙和石蜡之间的密度不同，较难切出完整的切片。对含钙组织最好固定之后，再进行脱钙或二者同时进行。然后进行下游操作如脱水、透明、浸蜡、包埋、切片。用于脱钙的试剂很多，脱钙剂包括有机酸、无机酸、乙二胺四乙酸(EDTA)以及电解法脱钙。EDTA 是一种相对较好的螯合脱钙剂，对组织结构影响最小，可以较好的保存组织的某些酶类，经 EDTA 脱钙后的组织可以进行免疫组化和原位杂交染色。但是该法脱钙速度太慢，一般需要脱数周至数月。

EDTA 脱钙液主要由 EDTA、磷酸盐等组成，pH 值为 7.2。其优点是：①经 EDTA 脱钙的组织染色结果好；②对组织的结构损害小。其缺点是：①脱钙速度很慢，不适合常规标本脱钙使用；②脱钙后组织会稍微变硬；③不宜用化学方法确定脱钙终点。

组成：

EDTA 脱钙液(15%)	500ml	RT

自备材料：

1、PBS

2、蒸馏水

3、加热装置或微波炉

操作步骤(仅供参考)：

1、骨组织脱钙时，取材不易过厚，一般大约 5mm。

2、组织固定后，用 PBS 清洗 3 次，每次 20min。

3、组织用蒸馏水洗清洗 3 次，每次 20min。

4、组织转移至 20~30 倍体积的 EDTA 脱钙液中，脱钙 10~30 天或更长时间。如果想加快脱钙速度，可以置于 37°C 进行脱钙。如果必要，更换新的 EDTA 脱钙液继续脱钙，多数组织脱钙 2 周~3 个月即可，每周更换一次直至终点。亦可采用微波快速脱钙法：微波炉设在 200W 左右的档位，每次加热 5min，依据组织厚度和密度重复 3~ 5min，中间间隔 3~ 5min。

5、用蒸馏水冲洗数次。

6、常规脱水、包埋。

注意事项：

1、厚度 5 mm 的骨组织块脱钙时间一般脱钙 10~30 天即可，大多数在 14~60 天即可。

2、适当加温能加快脱钙的速度，一般不应超过 37~40℃，温度过高容易使骨组织造成松散解体，尤其不可大于 60℃。

3、脱钙应彻底，防止脱钙不足或过度。脱钙程度应控制在不影响组织切片的同时尽量缩短脱钙时间，以免脱钙过长引起组织损害。

4、脱钙用具避免使用金属容器，尽量使用玻璃容器。

5、骨组织脱钙应先固定后脱钙或脱钙固定同时进行，不应先脱钙后固定，以便减少组织的损伤程度。

6、每隔一段时间检测一次脱钙程度，脱钙过度会增加组织的损伤程度，影响染色结果。

7、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。

附录:

脱钙终点的测定(物理法)：采用针刺、手掐、钳夹等方法，当骨组织变软或针刺时没有阻力感即可终止脱钙。物理检测法会对组织结构有一定的损害，尽量

避免用力过大或反复检测。