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

# 钙盐染色液(Von Kossa 银法)

## 简介：

钙在人体内大量存在，构成骨骼作为支持人体的支架，在分泌、运送、肌肉收缩、神经传导等也起重要作用，钙在机体内以两种形式存在，一种是离子钙，存在血液循环内，即所谓血钙；另一种是结合钙，和蛋白、碳酸或磷酸结合而沉着在组织内，除骨骼和牙齿外正常时钙渗透在所有组织和细胞中，一般不以固体状态出现在组织内，但在某些情况下钙析出成固体并沉着于组织内，则为病理性钙盐沉着，沉着的钙盐主要是磷酸钙，其次为碳酸钙。钙盐通常是单折射的，但草酸钙是双折射的，当使用 HE 染色时钙一般呈紫蓝色，许多染料可以于钙形成螯合物，包括茜素红 S、红紫素、核固红等，茜素红 S 属一种蒽醌类衍生物，是茜素磺酸钠盐，它能与碳酸钙或磷酸钙中的钙盐螯合形成橙红色复合物。

钙盐染色常用方法有硝酸银法和茜素红 S 法，钙盐染色液(Von Kossa 银法)又称冯库萨染色液，属金属置换法，其原理在于 Von Kossa 银溶液作用于含有不溶性钙盐的切片时，钙被银置换，银盐在光的作用下被还原为黑色金属银，适用于大量样本的钙盐组织染色。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：

| 编号 / 名称 | R22064<br>2×50ml | Storage |
|---|---|---|
| 试剂(A): Von Kossa 银溶液 | 50ml | 4℃ 避光 |
| 试剂(B): 海波溶液 | 50ml | RT |
| 试剂(C): Von Kossa 对照液 | 10ml | 4℃ |
| 说明书 | 一份 | |

## 自备材料：

1、10%中性福尔马林固定液

2、系列乙醇

3、蒸馏水

## 操作步骤(仅供参考)：

### 一、常规染色

1、组织固定于 10%中性福尔马林固定液，常规脱水包埋。

2、切片厚度 3~5μm，常规二甲苯或脱蜡透明液脱蜡至水，蒸馏水洗。

3、切片入 Von Kossa 银溶液，强光照射 15~60min(见注意事项 2)，蒸馏水洗 1min。

4、入海波溶液处理 2min，HE 染色液或 Van Gieson 复染细胞核 1min。

5、常规脱水，二甲苯或脱蜡透明液透明，中性树胶封固。

### 二、不溶性钙染色

1、组织固定于 10%中性福尔马林固定液，常规脱水，注意在 95%乙醇中脱水应充分。

2、塑料包埋，室温过夜，37℃烤箱中聚合 2~4 天，-20℃冰箱冷却 15~20min。

3、切片厚度 3~5μm，未脱钙骨切片脱塑至水，蒸馏水洗。

4、切片入 Von Kossa 银溶液，强光照射 10~60min(见注意事项 2)，蒸馏水洗。

5、入海波溶液处理 2min，HE 染色液、中性红或 Van Gieson 复染细胞核 1min。

6、常规脱水，二甲苯或脱蜡透明液透明，中性树胶封固。

## 染色结果：

| | |
|---|---|
| 钙盐 | 黑褐色至深黑色 |
| 细胞核 | 根据复染液不同而不同 |

**阴性对照：**如有必要，可做阴性对照。取另外一张连续切片脱蜡(脱塑)至水，置于 Von Kossa 对照液处理 10~20min，蒸馏水冲洗，与试验片一同入 Von Kossa 银溶液，余下步骤同上，结果为阴性。

**注意事项：**

1、钙盐组织固定以中性福尔马林为佳，不宜采用 Bouin 液等酸性固定液和甲醛钙固定液；如用常规的 10%福尔马林固定，固定 4～6h 后即可进行脱水包埋，以防止固定液酸化导致钙盐溶解。

2、作用时间取决于阳光照射时光的强度和时间；如暴露于强光下 15min 已经足够；如暴露于紫外灯下 10min 即可；如暴露于一般光线下，宜适当延长曝光时间。

3、如果钙盐染色过深，可用蒸馏水适当稀释 Von Kossa 银溶液或减少光照时间或光照强度；如果钙盐染色较浅，应增加 Von Kossa 银溶液用量并增加光照时间和光照强度。

4、该染色法可以区分尿酸盐和钙盐，其原理在于钙盐不溶解于碳酸锂溶液，尿酸盐易溶解于碳酸锂溶液，切片经碳酸锂处理后入 Von Kossa 银溶液并置于强光下尿酸盐呈阴性反应。

**有效期：**12 个月有效；4℃运输，4℃保存。