

## Stain-X 改良型油红 O 染色试剂盒使用说明书

### 【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5051	Stain-X Enhanced Oil Red O Staining Kit	50-250T/200-1000T
EK-5051-1	改良油红 O 染色液	50ml/200ml
EK-5051-2	油红 O 稀释液	50ml/200ml
EK-5051-3	染色洗涤液	60ml/250ml
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

室温避光保存保存 12 个月

### 【概述】

油红 O (Oil Red O) 是一种脂溶性偶氮染料，是很强的脂溶剂和染脂剂，能特异性地使组织和细胞内中性甘油三脂、脂质以及脂蛋白等染色。当组织切片置入染液时，染料则离开染液而溶于组织内的脂质(如脂滴)中，使组织内的脂滴呈红色。用于分析细胞样品中脂质状况。本产品操作简捷，性能稳定，着色清晰。

本试剂盒规格分别有 50ml 和 200ml 的油红 O 染色液，按照每个冰冻切片染色需要使用 0.2ml 油红 O 染色工作液（工作液配制见使用建议）、6 孔板每孔使用 1ml 油红 O 染色工作液来计算，可以分别检测 50-250 次和 200-1000 次。

### 【使用建议】

**使用前：**按照改良油红 O 染色液和油红 O 稀释液 3:2 的比例配制油红 O 染色工作液（以下使用均为工作液，现用现配），即每 3ml 改良油红 O 染色液加入 2ml 油红 O 稀释液混匀作为改良油红 O 染色液工作液。

#### 1. 样品处理

##### a. 对于细胞：

(1) 缓慢吸去细胞培养液，PBS 洗涤 1 次。

注：对于贴壁不太好的细胞，加入任何溶液时，不宜直接将溶液加到细胞上，而应沿着孔板壁缓慢加入，然后轻轻混匀，这样可以避免在加入溶液时使细胞漂浮起来。

(2) 加入 4% 组织/细胞固定液固定液(ES-8100)或 10% 甲醛固定 10 分钟，PBS 漂洗 2 次。

##### b. 对于冰冻切片：

取出预制好并保存于 -20°C 的冰冻切片，放入切片架回温 5-10 分钟。

##### c. 对于骨髓涂片和血涂片：

(1) 取少许样品置于载玻片上，将推玻片与载玻片保持 30° 角，用推玻片将骨髓推匀于玻

片表面，最好制稍厚一点的涂片。将涂片在空气中自然干燥或吹干。

(2) 选做：用 4%多聚甲醛固定液(ES-8100)或 10%甲醛溶液固定 10 分钟，固定后蒸馏水漂洗 2 次。

## 2. 油红 O 染色

### a. 对于细胞：

(1) 加入适量染色洗涤液覆盖细胞 20 秒。

注：不同细胞洗涤液使用时间可能略有偏差，可适当延长至最长 5 分钟。

(2) 吸除染色洗涤液，加入适量改良油红 O 染色液工作液，染色 10-20 分钟。

注 1：染液体积均匀覆盖细胞即可，以 6 孔板为例，可加入 1ml 染色工作液。

注 2：可适当延长染色时间，但不要超过 1 小时。

(3) 去除改良油红 O 染色液工作液，加入适量染色洗涤液，静置 30 秒，然后去除染色洗涤液，用 PBS 洗涤 20 秒。

注：染色洗涤液洗涤时间可根据经验延长至最长 5 分钟。

(4) 选做：可用苏木素染色液(ES-8524)进行细胞核的复染。

(5) 加入适量 PBS，均匀覆盖细胞即可，显微镜下观察和拍照。

### b. 对于冰冻切片、骨髓涂片和血涂片：

(1) 加入适量染色洗涤液覆盖样品 20 秒。

(2) 吸除染色洗涤液，取适量改良油红 O 染色液工作液，滴加于切片上，或直接将切片浸入染色工作液中，染色 10-20 分钟。

注：可适当延长染色时间，但不要超过 1 小时。

(3) 去除改良油红 O 染色液工作液，将适量染色洗涤液滴加于切片上，静置 30 秒，然后去除染色洗涤液，浸入蒸馏水中置于摇床洗涤 20 秒。

(4) 选做：可用苏木素染色液(ES-8524)进行细胞核的复染。

(5) 染色完成后可以直接观察和拍照。也可以使用水性封片液封片，然后镜下观察和拍照。

### 【注意事项】

1. 本品使用 Sigma 原料，货号为 O0625。
2. 改良油红 O 染色液为饱和溶液，容易有析出，不影响使用效果，也可以 60°C 左右水浴加热促溶。配制工作液后若沉淀较多，可用滤纸过滤后使用。
3. 样品固定时请使用 4%细胞/组织固定液(ES-8100)或 10%甲醛溶液，不可用醇类或丙酮等可以溶解脂肪的固定液。
4. 油红 O 染色时，应避免染色液挥发，否则染色液可能会形成沉淀而产生背景。
5. 用于油红 O 染色的冰冻切片要适当厚一些，一般为 10-15 $\mu$ m，切片太薄容易导致脂肪流失。
6. 油红 O 染色结果不能长期保存，染色完毕后应尽快观察拍照。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 【参考文献】

1. Andrographolide Alleviates Hepatic Inflammation in NAFLD W. Hu et al., Natural Product Research (2025)
2. Ramírez-Zacarias JL, Castro-Muñozledo F, Kuri-Harcuch W. Histochemistry. 1992. 97(6):493-7.