

VisiColor 结晶紫染色液 (0.4%) 使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8107	Crystal Violet Staining Solution, 0.4%	100mL/500mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

室温避光储存，有效期 12 个月

【概述】

结晶紫 (Crystal Violet) 是一种碱性染料，能与细胞核内的 DNA 及细胞质中的蛋白质结合。在微生物学中：作为革兰氏染色的初染剂，用于区分革兰氏阳性菌（紫色）与阴性菌（红色）。在细胞生物学中：用于贴壁细胞的染色，是克隆形成实验、Transwell 迁移/侵袭实验中细胞定量的金标准。

【使用方法 II-细胞生物学实验】

1. 细胞克隆形成实验 (Colony Formation)

固定：弃培养基，PBS 洗涤 2 次。使用固定液（如 ES-8100 4% 组织/细胞固定液）固定细胞 15 分钟。

染色：加入适量结晶紫（推荐使用 PBS 稀释至 0.1%），染色 10-30 分钟。

观察：流水缓慢洗去余液，室温干燥后肉眼计数紫色克隆点。

2. Transwell 迁移/侵袭实验

固定：将 Transwell 小室加入固定液（如 ES-8100 4% 组织/细胞固定液）中固定 15 分钟。

染色：将小室浸入结晶紫染色液中，常温染色 15-20 分钟。

处理：擦除小室上层未迁移的细胞，蒸馏水漂洗 3 次。

定量：镜下计数或使用 10% 醋酸洗脱染色液，于 570nm 处测定吸光度。

【使用方法 II-细胞革兰氏染色（经典流程）】

1. 涂片与固定：在载玻片上涂布薄层菌液，室温自然干燥（或微火烘干）。在酒精灯火焰外侧快速通过 3-5 次进行热固定，待冷却后染色。

2. 初染 (Primary Stain)：滴加结晶紫染色液覆盖标本，染色 1-2 分钟，清水轻缓冲洗。

3. 媒染 (Mordant)：滴加 Gram 碘液覆盖标本，室温放置 1-2 分钟，水洗。

4. **脱色 (Decolorization)**：关键步骤。滴加脱色液（如 95%乙醇），轻轻摇动 10-30s，至流下的液体不显紫色为止，立即水洗终止。*注意：脱色不足会导致假阳性，脱色过度会导致假阴性。*

5. **复染 (Counterstain)**：滴加沙黄（番红）染色液，染色 30-60s，水洗，吸干。

6. **结果判定**：革兰氏阳性菌呈蓝色至紫色；革兰氏阴性菌呈红色。

【技术指南：关于洗涤液的选择】

染色前：必须使用 PBS。用于洗去培养基或固定液，维持细胞原有形态，防止 pH 值剧烈变化影响染色效果。

染色后：推荐使用蒸馏水或缓慢流动的自来水。结晶紫极易溶于水，水洗能迅速清除背景余液，且避免了 PBS 干透后留下盐结晶干扰拍照或吸光度检测。

【注意事项】

1. **菌龄要求**：细菌鉴定建议使用对数生长期鲜活细菌。培养时间过长 (>24h) 可能导致阳性菌呈现阴性染色结果。
2. **浓度建议**：本品为 0.4%标准液。革兰氏染色建议直接使用；细胞克隆实验为获得更干净背景，建议用 PBS 稀释 4 倍（至 0.1%）使用。
3. **沉淀说明**：4°C 存放如出现少量沉淀，可于 37°C 水浴片刻溶解，不影响使用效果。
4. **安全防护**：操作时请穿实验服并佩戴一次性手套。仅供科研使用，严禁用于临床医疗、食品或动物治疗。