

改良 Harris 苏木素染色液

简介:

苏木素(Hematoxylin)和伊红(Eosin)联合染色简称 HE 染色, 是病理学和组织学最常用的一种染色方法。苏木精为碱性天然染料, 可使细胞核着色, 细胞核内染色质的主要成分是 DNA, 在 DNA 的双螺旋结构中, 两条核苷酸链上的磷酸基向外, 使 DNA 双螺旋的外侧带负电荷, 呈酸性, 很容易与带正电荷的苏木精碱性染料以离子键或氢键结合而被染色。

改良 Harris 苏木素染色液是最经典的 Harris 苏木素染色法的改进, 该染色液不含汞, 无毒, 无氧化膜, 细胞核染色质着色深而细微, 临床上常替代 Harris 苏木素染色液, 染色时间一般 5~8min, 其特点是苏木素被氧化的程度高, 染色力强, 虽然染色时间短, 但是易使细胞核、细胞质、纤维过染, 染色后需要盐酸乙醇分化, 属于退行性染色。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

染色原理:

1、细胞核染色原理: 苏木素为碱性天然染料, 可使细胞核着色, 细胞核内染色质的成分主要是 DNA, 在 DNA 双螺旋结构中两条核苷酸链上的磷酸基向外, 使 DNA 双螺旋的外侧带负电荷, 呈酸性, 很容易与带正电荷的苏木素碱性染料以离子键或氢键结合而被染色。苏木素在碱性溶液中呈蓝色, 所以细胞核被染成蓝色。

2、细胞浆染色原理: 伊红是一种化学合成的酸性染料, 在一定条件下可使细胞浆着色, 细胞浆的主要成分是蛋白质, 为两性化合物, 细胞浆的染色与染液的 pH 值密切相关, 当染色液 pH 值在胞浆蛋白质等电点(4.7~5.0)以下时, 胞浆蛋白质以碱式电离, 则细胞浆带正电荷, 就可被带负电荷的酸性染料染色。伊红在水中离解成带负电荷的阴离子, 与胞浆蛋白质带正电荷的阳离子结合, 使细胞浆着色, 呈现红色。

3、分化作用：染色后，用某些特定的溶液将组织过多结合的染色剂脱去，这个过程称为分化作用，所用的溶液称为分化液。在 HE 染色中常用 0.5—1% 盐酸乙醇作为分化液，因酸能破坏苏木素的醌型结构，使组织与色素分离而退色，大多数组织经苏木素染色后，必须用盐酸乙醇分化，使细胞核过多结合的苏木素染料和细胞浆吸附的苏木素染料脱去，再进行伊红染色，才能保证细胞核与细胞浆染色的分明。

4、返蓝作用：分化之后，苏木素在酸性条件下处于红色离子状态，呈红色；在碱性条件下处于蓝色离子状态，呈蓝色。组织切片经酸性乙醇分化后呈红色或粉红色，立即用水除去组织切片上的酸而中止分化，再用弱碱性水使苏木素染上的细胞核呈现蓝色，这个过程称为返蓝作用或蓝化作用，另外用自来水(尤其是温水)浸洗也可使细胞核返蓝，但所需时间较长。

组成：

名称	编号	R20566		Storage
	改良 Harris 苏木素染色液	100ml	500ml	RT
说明书	一份			

自备材料：

- 1、盐酸乙醇分化液
- 2、蓝化液，如稀氨水、碳酸锂溶液等
- 3、系列乙醇
- 4、伊红染色液
- 5、4%多聚甲醛

操作步骤(仅供参考)：

(一)石蜡切片染色

1、切片脱蜡至水

-
- ①二甲苯或脱蜡透明液作用 2 次, 每次 5~10min。
 - ②(可选)无水乙醇作用 2 次, 每次 3~5min。
 - ③95%的乙醇 3~5min
 - ④90%的乙醇 3~5min
 - ⑤80%的乙醇 3~5min
 - ⑥自来水或蒸馏水冲洗 1~3min

2、染色

- ①改良 Harris 苏木素染色液染色 5~8min
- ②自来水或蒸馏水冲洗 5~10s
- ③(可选)盐酸乙醇分化 2~5s
- ④自来水冲洗 20~30s
- ⑤(可选)蓝化液返蓝 20~40s
- ⑥自来水冲洗 30~60s
- ⑦伊红染色液染色 3~5min
- ⑧自来水冲洗 1~5s

3、脱水、透明、封固

- ①80%乙醇 10~20s
- ②90%乙醇 10~20s
- ③95%乙醇作用 2 次, 每次 1~2min。
- ④无水乙醇作用 2 次, 每次 2~3min。
- ⑤二甲苯或脱蜡透明液透明 3 次, 每次 2~3min。
- ⑥中性树脂封片。

染色结果: 细胞核呈蓝色; 细胞质、肌纤维、胶原纤维等呈深浅不一的红色; 角蛋白、红细胞等呈明亮的橙红色。

(二)冰冻切片染色

- 1、乙醚-乙醇混合固定液 5~10s
- 2、自来水冲洗 2~5s
- 3、改良 Harris 苏木素染色液滴染 1~2min(可加热至 50°C)。

-
- 4、自来水冲洗 2~5s
 - 5、(可选)盐酸乙醇分化 2~5s
 - 6、自来水冲洗 2~5s
 - 7、(可选)蓝化液返蓝 2~5s
 - 8、自来水冲洗 5~10s
 - 9、伊红染色液染色 2~5s
 - 10、自来水冲洗 1~2s
 - 11、80%的乙醇 1~2s
 - 12、95%的乙醇 1~2s
 - 13、无水乙醇 2~5s
 - 14、苯酚二甲苯(1:3) 2~5s
 - 15、二甲苯或脱蜡透明液透明 3次, 每次 2~5s。
 - 16、中性树脂封片

染色结果: 细胞核呈蓝色; 细胞质、纤维呈红色。

(三)细胞染色

- 1、4%多聚甲醛固定 10~20min。
- 2、自来水冲洗 2次, 每次 2min。
- 3、蒸馏水冲洗 2次, 每次 2min。
- 4、染色、脱蜡、透明、封固步骤同石蜡切片的染色步骤, 作用时间应相应缩短。

染色结果: 细胞核呈蓝色; 细胞质、纤维呈红色。

注意事项:

- 1、切片脱蜡应尽量干净。
- 2、系列乙醇应经常更换新液。
- 3、盐酸乙醇分化时间应根据切片厚薄、组织类别以及新旧而定, 另外分化后自来水冲洗时间应该足够, 以便彻底清洗酸。
- 4、乙醚-乙醇混合固定液是由乙醚和 95%乙醇等量混合而得, 再加入适量



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

乙酸，密闭保存。

- 5、冷冻切片染色时间尽量要短。
- 6、蓝化液常使用 0.2~1%氨水或 Scott 促蓝液或 0.1~1%碳酸锂溶液。
- 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。

