

改良 Lillie-Mayer 苏木素染色液

产品简介:

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 Lillie-Mayer 苏木素染色液无毒, 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; 对细胞核染色很清晰, 不着染胞质和纤维成分, 属进行性染色, 故染色后可以不用盐酸乙醇分化, 染色时间约 5 ~ 8min, 如果是充分氧化后可染色 3 ~ 5min。该试剂常用于糖原等特殊、酶组化和免疫组化等染色后复染细胞核作对照染色, 尤其适用于经过特殊染色后不能经酸处理时对细胞核的复染, 在特殊染色中常与天青石蓝 B 液联合染色, 使细胞核染色后不被后续的酸性染料所褪色。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。

产品组成:

名称	编号	DH0001	DH0001	Storage
	改良 Lillie-Mayer 苏木素染色液		100ml	500ml
使用说明书		1 份		

自备材料:

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

操作步骤(仅供参考):
(一)石蜡切片染色
1、切片脱蜡至水

- ①二甲苯或浸蜡脱蜡透明液(Leagene DZ2011)作用 2 次, 每次 5 ~ 10min。
- ②(可选)无水乙醇作用 2 次, 每次 3 ~ 5min。
- ③95%乙醇 3 ~ 5min
- ④90%乙醇 3 ~ 5min
- ⑤80%乙醇 3 ~ 5min
- ⑥自来水或蒸馏水(亦可用 30~40°C温水)冲洗 1 ~ 3min

2、染色

- ①改良 Lillie-Mayer 苏木素染色液 3 ~ 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蓝化液或温水返蓝 20 ~ 40s
- ⑥80%乙醇脱水 30 ~ 60s
- ⑦伊红染色液(醇溶)染色 30s ~ 3min

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。

⑤二甲苯或浸蜡脱蜡透明液(Leagene DZ2011)透明 3 次, 每次 2 ~ 3min。

⑥中性树胶封片。

(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、Leagene 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、蓝化液或温水返蓝 2 ~ 5s
- 8、80%乙醇脱水 5 ~ 10s
- 9、伊红染色液(醇溶)染色 2 ~ 5s
- 10、80%乙醇 1 ~ 2s
- 11、95%乙醇 1 ~ 2s
- 12、无水乙醇 2 ~ 5s
- 13、苯酚二甲苯(1:3) 2 ~ 5s
- 14、二甲苯或浸蜡脱蜡透明液(Leagene DZ2011)透明 3 次, 每次 2 ~ 5s。
- 15、中性树胶封片。

(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、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。

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、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 8、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。

相关产品：

产品编号	产品名称
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DC0032	Masson 三色染色液
DF0111	组织固定液(10% NBF)
DF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液
PW0082	丽春红 S 染色液(1×Ponceau S)
TE0002	碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(PNP 微板法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)