

改良 Harris 苏木素染色液说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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 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。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
改良 Harris 苏木素染色液	500ml/100ml	RT	1 份	1 年

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	2~5
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℃)。
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。

相关产品：

天青石蓝苏木素染色液
天青石蓝 B 染色液
碳酸锂饱和水溶液
酸性乙醇分化液(1%)
酸性乙醇分化液(0.5%)
苏木素伊红(HE)染色液（水溶）
苏木素伊红(HE)染色液（醇溶）
苏木素无水乙醇溶液(5%)