

苏木素伊红(HE)染色试剂盒使用说明书

【产品名称】

产品编号	产品名称	包装
EK-5121	Hematoxylin-Eosin/HE Staining Kit	100ml×2

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5121-A	苏木素染色液	100ml
EK-5121-B	伊红染色液	100ml
	使用说明书	1份

【保存条件】

室温避光保存，有效期至少一年

【概述】

苏木素染色(hematoxylin staining or haematoxylin staining)，也被称作苏木精染色，是最常用的组织和细胞的染色方法之一。无色的苏木素(hematoxylin)氧化后形成有醌环结构(quinoid ring)的氧化苏木素(hematein or haematein)，从而可以和三价的铝离子、铁离子等形成有颜色的带正电荷的复合物(如 hematein-Al³⁺ complexes)。氧化苏木素(也称氧化苏木精)和铝离子等形成有色的复合物的过程也被称为 Dye Lake Formation。细胞核内基因组 DNA 的双螺旋结构中，双链上的磷酸基团向外，带负电荷，呈酸性，很容易与带正电荷的氧化苏木素复合物结合，从而形成细胞核染色。苏木素染色液有多种不同的配制方法，不同的方法可以把细胞核染色成不同深浅的蓝色或蓝紫色。

伊红(eosin)是一种化学合成的酸性染料，在水中解离成带负电荷的阴离子，可以和蛋白质氨基上带正电荷的阳离子结合，从而使细胞胞浆染成不同程度的红色或粉红色，与苏木素染色液染色形成的蓝色细胞核形成鲜明对比，从而使苏木素伊红(HE)染色成为病理组织切片中最广泛使用的一种常规染色方法。

本试剂盒使用试剂为优化后的 Mayer 法配方，苏木素伊红染色后细胞核呈现蓝色，细胞浆呈现粉红色或红色。

【使用方法（仅供参考）】

1.样品处理

a.对于石蜡切片:

二甲苯（自备）中脱蜡 5-10 分钟；换用新鲜的二甲苯，再脱蜡 5-10 分钟；无水乙醇浸泡 5 分钟；90%乙醇浸泡 2 分钟；80%乙醇浸泡 2 分钟；70%乙醇浸泡 2 分钟。蒸馏水洗涤 2 分钟。

b.对于冰冻切片:

固定液固定 10 分钟以上。蒸馏水洗涤 2 分钟。

c.对于培养细胞:

固定液固定 10 分钟以上。蒸馏水洗涤 2 分钟。换用新鲜的蒸馏水，再洗涤 2 分钟。

2. 苏木素伊红(HE)染色

对于上述处理好的样品:

- a. 苏木素染色液染色 1-5 分钟(可以根据染色结果和要求调整时间，根据组织大小和厚度进行调整)。
- b. 蒸馏水洗去浮色，用适当的返蓝液浸泡样品 10-60s (亦可用自来水中冲洗去多余的染色液，约 10 分钟)。
- c. 蒸馏水再洗涤一遍(数秒钟)。
- d. 选做: 根据不同分化液(自备)的分化时间，分化约 2-30 秒，自来水冲洗 10 分钟。
- e. 伊红染色液染色 30 秒-2 分钟(可以根据染色结果和要求调整时间)。

此时，如果需要直接观察，可以用 70%乙醇洗涤 2 次。如需脱水、透明后封片按后续步骤进行，70%乙醇洗涤后仍可按照后续步骤进行脱水、透明和封片处理。

3. 脱水、透明、封片观察

70%乙醇 10 秒，80%乙醇 10 秒，90%乙醇 10 秒，无水乙醇 10 秒。二甲苯透明 5 分钟。换用新鲜的二甲苯，再透明 5 分钟。用中性树胶或其它封片剂封片。显微镜下观察，细胞核呈蓝色，而细胞浆呈粉红色或红色。

【效果图】

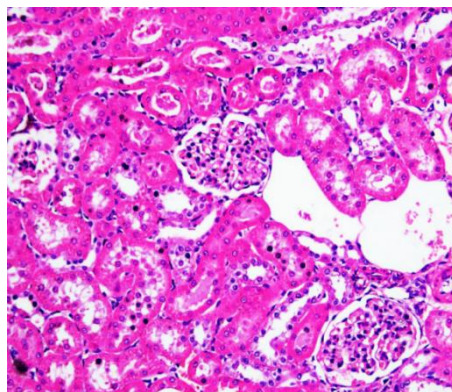


图 1.小鼠肾脏组织切片效果图

【注意事项】

1. 染色后的分化为选做步骤，但分化后核质着色更清晰。
2. 染色液可以重复使用多次，认为效果不佳时再更换新的染色液。
3. 第一次使用本试剂盒时建议先取 1-2 个样品做预实验。
4. 伊红在水和梯度乙醇中会出现脱色，因此建议快速脱水。
5. 仅用于实验室，不适合农业/家庭/临床用途使用。
6. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。