



## 苏木素染色液

### 产品描述

苏木素染色液综合了多种经典的方法配制而成。该溶液无汞, 可用于免疫组化复染和 H&E 染色。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
苏木素染色液	AS11L021	100mL

### 运输与保存

常温运输。常温避光保存, 有效期 12 个月。

### 使用方法

#### 1. 试剂准备

酸酒精: 在 100mL 70%乙醇中加入 1mL 盐酸, 室温保存。注: 冰冻切片后, 各种步骤(干燥, 乙醇或甲醇固定, 热固定, 使用带电的或有粘性的盖片) 保证组织切片在染色过程中不脱落。

#### 2. 95%乙醇: 在 HE 染色开始前, 组织切片需要固定并水化。将切片置于 95%乙醇中约 2min, 开始水化并固定组织。**注:** 跳过使用 95%乙醇对组织进行水化和固定, 并不影响形态学上的细节。

#### 3. 水化: 进一步对组织切片进行水化 3-5min, 并冲掉前一步残留的乙醇。

#### 4. 苏木素: 水化后, 组织切片用苏木素染色 1-3min, 可根据染色结果和要求调整染色时间。苏木素是一种基本染料, 可以对细胞的酸性成分进行染色, 包括核酸、粘多糖、酸性糖蛋白, 将他们染成蓝色或蓝紫色。**注:** 没有苏木素, 伊红会将组织染成亮粉红色; 显而易见的是缺乏细胞核。组织结构很难区分, 细胞内成分几乎都不存在, 难以辨别。针对上述问题, 可以使用苏木素进行复染。

(1) 染色较弱是由于: 自身溶解或者固定不好; 过度脱钙; 染色时间不足; 过度脱色(酸与醇的比例过高或者酸乙醇脱色时间过长); 苏木素的作用较弱(苏木素氧化过度(过老)或水稀释过度); 漂洗溶液的污染; 切片过薄; 乙醇的去除或者染色前水的漂洗不充分。

(2) 染色过度是由于: 组织切片干燥; 苏木素浓度过高; 染色时间过长; 载玻片粘合剂过多; 脱色过弱或时间不足; 切片过厚; 热暴露的时间过长。

#### 5. 水洗: 苏木素染色后, 用水洗组织是非常重要的。这一步以及随后的水洗, 可将多余的染料, 媒染剂等去除。适当的漂洗可以去除表面金属光泽, 金属光泽可阻止苏木素的染色。**注:** 跳过此步, 将产生不好的结果, 例如沉淀的形成, 染液的稀释, 表面金属光泽的存在。

#### 6. 酸酒精: 酸酒精分色剂 3-5s。在苏木素染色方法中, 组织切片有意过度染色, 酸酒精将去除多余的染料以及玻片上的背景染色。

注: 若省略此步骤, 切片将呈暗紫色, 嗜酸性结构(如胶原)不会显现出明亮的粉红色, 导致组织结构之间难以区分, 从而影响对切片的准确判断。另外, 分色过度可能是由于: 酸浓度过高;



脱色时间过长等。分色不足是由于：酸浓度过低；脱色时间不足；在切片上有多余的蛋白或者明胶等。

7. 水洗：水洗 30s，终止酸酒精反应，进一步阻止酸酒精从组织切片上将大量苏木素去除。**注：**如果切片没有经过漂洗，酸酒精可以过度脱色。如果不去除脱色剂，酸酒精将持续从组织切片上去除苏木素。
8. 自来水冲洗或用蓝化液蓝化：自来水冲洗 3-5min，可起到发蓝处理，将紫红色的苏木素转变为蓝紫色。通常，发蓝试剂是 pH 依赖性的，由碱性溶液构成。因此，如果自来水作为发蓝试剂，pH 值的每天监控是非常重要的，因为自来水的 pH 值可能每天都会波动。或用蓝化液蓝化，30s-1min；流动的自来水冲洗 5min；**注：**跳过发蓝试剂步骤，将会导致苏木素染液的颜色发生微妙的变化，难以区分。代替深蓝色，细胞核将呈现紫色，有时甚至是红色。细胞核不可过度蓝染。如果组织染色过蓝，一般是在组织切片上苏木素过多所致。
9. 水洗：为伊红复染做准备，通过水洗 30sec，将多余的发蓝试剂去除。因为在碱性环境下，伊红无法染色，水洗去除发蓝试剂将允许伊红保持其酸性 pH 值，使伊红得以均匀复染。**注：**发蓝试剂之后，如果没有水洗，组织切片无法正确使用伊红染色。因此，酸性结构将被染为苍白色并且不均匀，进而导致错误的判断。
10. 伊红：为了正确区分胞内结构，伊红是出色的苏木素复染剂。伊红复染 30-60s，可根据染色结果和要求调整染色时间。伊红是酸性染料，可染细胞质，尤其是线粒体、分泌颗粒和胶原。它可以区分细胞内不同的细胞器以及不同的结缔组织。**注：**使用伊红复染组织切片的失败，将导致组织切片的低分化。
  - (1) 染色较弱是由于：组织切片过薄；染色时间不足；随后 95%酒精分化过度。
  - (2) 染色过度是由于：染液浓度较高（可能是由于过度蒸发）；组织切片过厚；染色时间过长；随后 95%酒精分化不足。
  - (3) 伊红染色未分化（一种颜色）是由于：固定不彻底；过度染色（染色时间过长或染液浓度过高）。
11. 95%乙醇：95%乙醇处理 2s-1min，根据染色结果和要求调整；伊红分化将产生不同的粉色。**注：**如果 95%乙醇被稀释（例如，从前一步染色中携带了伊红），分化的效果较差。
12. 100%乙醇：通过 100%乙醇使组织切片脱色。100%乙醇处理 1min；再用新的 100%乙醇处理 1min。**注：**这一步很难引起注意，若无 95%乙醇，难以区分酸性结构，组织切片成为粉色。若无 100%乙醇脱水，组织切片不能完全脱水，导致在盖片下形成水珠。这些水珠可与下一步的二甲苯结合而形成白色混浊物，这将影响组织切片的质量。
13. 二甲苯：二甲苯处理 5min。在充分脱水后，二甲苯可将组织切片上的酒精去除。去除酒精后，在载玻片上加盖玻片时，二甲苯也可作为包埋剂确保可溶解。由于有潜在的毒性，二甲苯替代品，例如柠檬烯、环烷烃也可使用。替代品可提供相同的组织染色质量，并且他们使用更安全，操作更简单。**注：**当跳过此步骤时，不使用二甲苯透明，酒精将会保存于组织切片上，导致伊红从切片上流出。
14. 封片：中性树胶封片，自然风干或烤干，显微镜观察。

**染色结果：细胞核染为蓝色；细胞质染为红色。**



## 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 试剂应保存于阴凉、干燥、通风良好的环境中。
4. 本产品可与伊红染色液 (货号: AS11L031) 配合使用。
5. 第一次使用本产品时建议先取 1-2 个样品做预实验。

## 相关产品推荐

通用型组织细胞固定液 (4%多聚甲醛) (货号: AC28L112)

抗荧光淬灭剂 (货号: AC28L512)

苏木素伊红(HE)染色试剂盒 (货号: AS11L011)

伊红染色液 (货号: AS11L031)