

苏木精-伊红染色方法

苏木精 (hematoxylin) 和伊红 (eosin) 染色方法, 简称 HE 染色方法, 是细胞与组织学最广泛的染色方法。

一、HE 染色的基本原理

(一) 细胞核染色的原理

细胞核内的染色质主要是去氧核糖核酸 (DNA), DNA 的双螺旋结构中, 两边链上的磷酸基向外, 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。苏木精在碱性溶液中呈蓝色, 所以细胞核被染成蓝色。

(二) 细胞浆染色的原理

细胞浆内主要成分是蛋白质, 为两性化合物、细胞浆的染色与 pH 值有密切关系, 当 pH 调到蛋白质等电点 4.7-5.0 时, 胞浆对外不显电性, 此时酸或碱性染料不易染色。当 pH 调到 6.7-6.8 时, 大于蛋白质的等电点 pH 值, 表现酸性电离, 而带负电荷的阴离子, 可被带正电荷的染料染色, 现时胞核也被染色, 核和胞浆难以区分。因此必须把 pH 调至胞浆等电点以下, 在染液中加入醋酸使胞浆带正电荷 (阳离子), 就可被带负电荷 (阴离子) 的染料染色。伊红 Y 是一种化学合成的酸性染料, 在水中离解成带负电荷的阴离子, 与蛋白质的氨基正电荷 (阳离子) 结合而使细胞浆染色, 细胞浆、红细胞、肌肉、结缔组织, 嗜伊红颗粒等被感染成不同程度的红色或粉红色, 与蓝色的细胞核形成鲜明的对比。

(三)、二甲苯的作用

烤片后切片进入二甲苯是脱蜡的作用。组织处理和染色后进入二甲苯是透明作用。组织处理的透明是为了石蜡能进入到细胞中去，染色后透明是为了使细胞的折光率与玻璃相同，以便显微镜观察。

（四）、酒精的作用

酒精用于苏木精染色前由高浓度至低浓度是为了洗脱用于脱蜡的二甲苯。

伊红染色以后的酒精由低浓度至高浓度酒精逐渐过度是为了彻底脱去组织中的水份。

（五）、水洗的作用

在脱蜡经酒精处理之后，水洗切片，是为了苏木精染液能更好的进入细胞核中去，使细胞核染色均匀。

染色之后的水洗作用是为洗去未与切片结合的染液。

分化以后的水洗则是为了除去分化液和脱下的染料，中止分化作用。

在伊红染色之后也可以水洗，是为了减少伊红染液进入脱水的酒精中。

（六）分化和蓝化作用

1、分化作用

苏木精染色之后，先用水洗去未结合在切片中的染液。然后用分化液 1%盐酸酒精脱去细胞核中结合过多的染料和细胞浆中吸附的染料，这个过程称为染色的分化作用。

2、蓝化作用

分化之后苏木精在酸性条件下处于红色离子状态，在碱性条件下则处于蓝色离子状态，而呈蓝色。所以分化之后用水洗除去酸而中止分化再用温水或弱碱性水使染上苏木精的细胞核变蓝色，称蓝化作用，以自来水浸洗或温水变蓝为佳。