技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)11-1700-02

2 种苏木精染液在免疫组织化学中复染效果的比较

冯清林,姜 蓉,雷 波,彭小华,黄良库
(重庆医科大学干细胞与组织工程研究室,重庆 400016)

【摘 要】目的:比较 Mayer 苏木精和 Harris 苏木精染液在免疫组织化学复染中的效果,提高免疫组织化学染色质量。方法:采用相同的染色方法分别将两种苏木精染液用于心肌、大脑等多种石蜡切片的 SP、SABC 免疫组化复染,对比两种染液染色结果。结果:Mayer 苏木精复染后的切片细胞核呈深蓝色,细胞浆及周围环境却没有附着色,核质对比清晰。结论:Mayer 苏木精染液在免疫组化复染中效果明显优于 Harris 苏木精。

【关键词】Mayer 苏木精;Harris 苏木精;免疫组织化学;复染
【中国图书分类法分类号】R329.33 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-04-20

The consequent comparison of two types of hematoxylin in followed-staining of immunohistochemistry

FENG Qing-lin, et al
(*the Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To compare the consequence of immunohistochemistry with Mayer hematoxylin and Harris hematoxylin followed-staining, and to improve the quality of immunohistochemistry staining. ***Methods***: Two types of hematoxylin were used with the same method in immunohistochemistry of cardiac muscle and brain, and the results: of followed-staining were compared. ***Results***: The cytoblast with Mayer hematoxylin follow-staining was dark blue, but the cytoplasm and the background were not stained, and the difference between cytoplasm and cytoblast was clear. ***Conclusion***: Mayer hematoxylin followed-staining has better ***Results*** than Harris hematoxylin in immunohistochemistry.

【Key words】Mayer hematoxylin; Harris hematoxylin; Immunohistochemistry; Followed-staining

组织切片是供医学形态学教学和研究的重要来源,其质量的好坏直接关系到教学和科研水平,还直接关系到病理诊断水平。近年来,免疫组织化学法在教学和科研中广泛应用,已是医学研究的一种基本技术。但在复染方面除了要求技术人员有熟练的操作技能外,更重要的是要求在制作程序及苏木精染液的配制和使用方法上做出最佳的选择,才能达到最佳的染色效果。在实验中常用的多种苏木精染色液中,Harris 苏木精染色力强,核着兰紫色,是常用的细胞核染色剂,但其复染时间和程度不易掌握,易使细胞浆附着色,背景不干净。而经过改良的 Mayer 苏木精克服了上述缺点,具有染色时间容易掌握,核质对比清晰,以及可用于要求不含酒精的免疫组化显色剂(如:AEC)显色的切片等优点,有巨大的推广价值。本文结合对两种染色液的使用体会及参考文献,探讨 2 种种苏木精染液在免疫组织化学中复染的效果,提高免疫组织化学染色质量。

作者介绍:冯清林(1982-),男,硕士,
研究方向:颅内肿瘤的基础与临床。
通讯作者:姜 蓉,女,高级实验师,E-mail:Wanglijiang999@163.com。

1 材料和方法

1.1 试剂配制

1.1.1 Harris 苏木素染液配制 苏木素 1 g,无水酒精 10 ml,硫酸铝钾 20 g,蒸馏水 200 ml,黄色氧化汞 0.5 g。配制方法:首先将三角烧瓶内放入硫酸铝钾 20 g,蒸馏水 200 ml 在电炉上加热溶解,同时将苏木素 1 g 溶解于 10 ml 无水酒精中。三角烧瓶内硫酸铝钾溶解后,缓慢加入苏木素酒精溶液并继续加热至沸腾,一旦沸腾马上离火,同时加入少量黄色氧化汞边摇匀,切忌继续煮沸,以免氧化过度。待冷却后过滤使用。

1.1.2 Mayer 苏木素染液配制 苏木素 0.1 g,硫酸铝钾 5 g,柠檬酸 0.1g,水合氯醛 5 g,碘酸钠 20 mg,蒸馏水 100 ml。配制方法:先将硫酸铝钾 5 g 加入 100 ml 蒸馏水中加热溶化,再加入苏木素 0.1 g,搅拌至充分溶解直至沸腾,再依次加入柠檬酸 0.1 g 和水合氯醛 5 g 和碘酸钠 20 mg,使之充分溶解,冷却后过滤待用。

1.2 染色

1.2.1 免疫组化染色 心肌、大脑等石蜡切片用于常规的 SP、

SABC 免疫组化方法，DAB、AEC 显色，结果为黄褐色或红色阳性反应物，分别用 Mayer 苏木素和 Harris 苏木素进行复染。

1.2.2 Mayer 苏木素染液 将经免疫组织化学法显色后的切片放入自来水冲洗，然后放入 Mayer 苏木精液浸染 5 min，自来水冲洗，后饱和碳酸锂转兰，再经 1%盐酸乙醇分化，镜下观察后，将切片立即放入自来水中冲洗，直至细胞核变蓝而胞浆及周围组织无附着色，常规脱水封片。

1.2.3 Harris 苏木素染液 将已显色切片放入自来水冲洗，然后放入 Harris 苏木精染液浸染 2 min，自来水冲洗，后饱和碳酸锂转兰，再经 1%盐酸乙醇分化，镜下观察后，将切片立即放入自来水中冲洗，直至细胞核变蓝而胞浆及周围组织最大程度无附着色，常规脱水封片。

2 结 果

Mayer 苏木精染液可将细胞核染成鲜蓝色而胞浆无色，染色层次分明，清晰度很高（图 1、2），Harris 苏木精染色力强，染色时间短但往往细胞浆及周围组织有一定附着色，背景颜色深（图 3、4）。与 Harris 苏木精染液对比染色比较，Mayer 苏木精染液复染后的图像色彩更为鲜艳美观，细胞结构显示清晰更便于免疫组织化学染色结果的分析，并且免疫组化方法中 AEC 显色剂还不能用含酒精的 Harris 苏木精。所以 Mayer 苏木精较 Harris 苏木精有更广泛的应用。

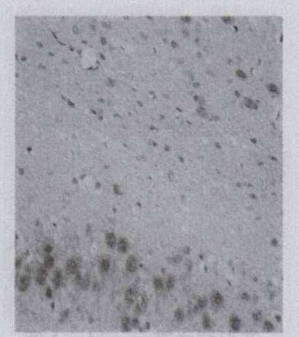


图 1 Mayer 苏木精染液复染的脑组织（×400）

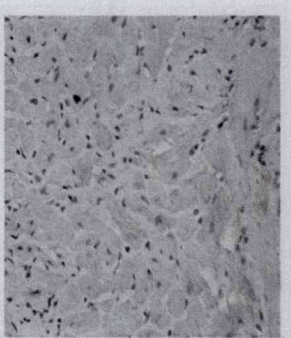


图 2 Mayer 苏木精染液复染的心肌组织（×400）



图 3 Harris 苏木精染液复染的脑组织（×400）

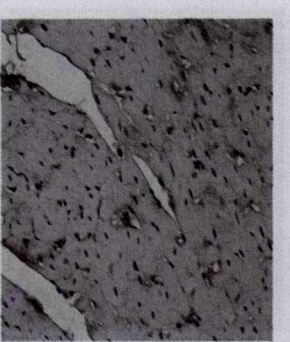


图 4 Harris 苏木精染液复染的心肌组织（×400）

3 讨 论

免疫组织化学是病理诊断及医学科学研究的一种基本技术，现在已广泛应用于各大实验室，苏木精染液复染效果对切片结果质量有重要影响，但在实际工作中细胞核染色效果常常易发生波动，波动大的染色过度，使细胞浆同时着色，背景颜色加深；染色过浅会使核结构不清，使切片质量严重下降[1]。苏木精（Haematoxylin）是一种天然染料，是组织、病理实验室中最常用的染色剂，主要用于细胞核染色。但其本身没有染色能力，必须经氧化成熟变为氧化苏木素（Haematein），并需在媒染剂的作用下，才能具有染色能力[2]。苏木素染液氧化是否完全决定染液中生成的苏木红的多少，从而决定染液的力度，而氧化剂的选择是苏木精氧化反应是否完全的先决条件。Mayer 苏木精和 Harris 苏木精分别选用碘酸钠和黄色氧化汞作为各自的氧化剂，两种氧化剂在理化性状方面有一定的区别[3]。碘酸钠在氧化还原时产生的电极电位的电对值为 +1.2，黄色氧化汞所产生的电对值为 +0.85，两者对比碘酸钠的电对值大于黄色氧化汞。根据化学氧化还原电极电位数据规律，氧化剂的电对值愈大，其氧化态愈容易获得电子，也就表明它的氧化能力愈强。由此可见碘酸钠的氧化能力比黄色氧化汞要强，为苏木红的生成提供了先决条件。哈瑞（Harris）苏木精是哈瑞于 1890 年发现的，迄今为止它仍然是世界各国实验室最常用、最重要的染液之一，也是最经典、历史悠久的染液，几乎所有的常规切片、冰冻切片、涂片等染色都使用这种染液，其优点很多。但是也有不尽人意的地方如出现氧化膜较快，易生成沉淀和污染切片，配方中含有剧毒品氧化汞，最重要的是易使细胞浆也有附着色，背景加深[4]。Mayer 苏木精于 1903 年由 Mayer 研制成功，经过不断改良，其克服了 Harris 苏木精的上述不足，具有能够减少沉淀，有效消除过度氧化金属膜、对组织和细胞着色时间容易掌握，细胞核呈鲜蓝色，细胞浆没有附着色，核质对比清晰的优点。

本文从免疫组织化学试验研究的结果中对比 2 种苏木精染色液复染效果，发现经 Mayer 苏木精染色的组织切片细胞核染成蓝紫色胞浆着色很淡，染色层次分明，清晰度很高。使用 Mayer 苏木精染液后明显提高了切片的染色质量，因此 Mayer 苏木精在免疫组织化学实验中具有很大的推广价值。

参 考 文 献

[1] 张吉强，姚 青，刘建军，等. 不同显色方法对免疫细胞化学显色结果的影响[J]. 第三军医大学学报，2002，3（24）：359-360.

[2] 芮菊生，杜懋琴，陈海明，等. 组织切片技术[M]. 上海：上海人民教育出版社，1983.68-70.

[3] 陆志平. 试剂手册[M]. 上海：上海科学技术出版社，2002.640-1187.

[4] 胡锦林，吴 伟. 苏木素染液的配制与染色影响因素[J]. 肿瘤学杂志，2005，11（4）：319.

（责任编辑：冉明会）