

人体及动物组织 H.E 染色石蜡切片法的技术改进

赵惠玲^① 王青^① 王蔚魁^②

(① 太原师范学院生物学系 太原 030031; ② 山西大学生命科学与技术学院 太原 030006)

摘要: 报道人体及动物组织石蜡切片方法的全面革新技术。以组织块的固定、苏木精染色和脱水同时进行为主要技术特征,改进了某些操作细节,获得了良好的效果。

关键词: 人体及动物组织;组织块染色;石蜡切片

中图分类号: Q175.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)03-42-02

Technical Innovation of Paraffin Slice for H.E Staining in Human and Animal Tissues

ZHAO Hui-Ling^① WANG Qing^① WANG Wei-Kui^②

(① *Taiyuan Teachers College, Taiyuan* 030031; ② *Shanxi University, Taiyuan* 030006, China)

Abstract: This article reports the all-around innovation technology of paraffin slice method for human and animal tissues. The main technical key is the combination of the fixation, haematoxylin staining and dehydration of tissue pieces into one simultaneous manipulation step. Some operation details are also improved in order to achieve better results.

Key words: Human and animal tissue; Tissue piece staining; Paraffin slice

1860年 T. E. Klebs 介绍了石蜡包埋法,1870年 W. His 发明了切片机,以后经相关学者们逐步完善,形成了完整的生物组织石蜡切片法,在细胞和组织学领域内广为应用,是医院病理组织学临床检验的一种经典而常用的方法。常规石蜡切片法步骤繁多,耗时很长。使制片过程简便快速的关键是组织块的整体染色。虽然 Ehrlich 氏苏木精可对脊椎动物胚胎、无脊椎动物幼虫和小型的组织块染色^[1],但其染色不够均匀,耗时太长,难以推广。

作者吸取王蔚魁植物苏木精整体染色法^[2]中媒染、染色和分色同步完成的技术特点,将组织块的固定、染色和脱水三大步骤合为一步进行,并对制片中的一些操作细节如蜡带展平、切片兰化和伊红复染等也做了改进,使人体及动物组织的常规石蜡切片方法在技术和制片质量上都得到了显著提高。

1 材料与方 法

1.1 试剂配制

1.1.1 固定染色液

甲液:将 0.5 g 硫酸铁铵溶解于 10 ml 蒸馏水中,再加入 90 ml 冰醋酸(潮解变质的硫酸铁铵不易溶解,应选用新鲜优质的。该液配好后可常温保存)。

乙液:将苏木精 1.5 ~ 2.0 g 溶于 100 ml 甲醇中(该液最好预先配成,令其自然成熟,常温保存)。

使用液:将甲液与乙液等量混合即成(该液在临用时配制,用量为被染材料体积的 20 倍以上)。

1.1.2 兰化液 将 KOH(不拘量)溶于甲醇中,再将此液滴入另备的甲醇中,滴至 pH 7.5 ~ 8 为止。

1.1.3 曙红复染液 复制曙红:将曙红(Y 或 B) 0.5 g 加入到 3 ml 蒸馏水中,摇匀,再一滴滴地加入冰醋酸,边加边搅动可见沉淀生成,至浆糊状时再加入蒸馏水数毫升,继续滴冰醋酸至沉淀不再增加时过滤,将沉淀

第一作者介绍 赵惠玲,女,40岁,实验师;研究方向:动物学。

收稿日期:2003-07-05,修回日期:2004-03-05

物连同滤纸一起置 50~60℃ 干燥箱内烤干备用。

将复制曙红 0.1 g 溶于 100 ml 甲醇中即为曙红复染液。

1.2 取材 切取人体或动物新鲜组织,根据所需切片面积的大小,切成小型组织块,在 5% 冰醋酸水溶液中浸泡 10~20 min 后加以冰冻,当冻到适当硬度时,切成厚 2 mm 左右的片状组织块。冰冻的目的是为了便于切割平整及掌握厚度,有利于充分固定及染色;用低浓度冰醋酸浸泡是为了防止冰冻时材料的脱水收缩。

1.3 固定及染色 将切割好的片状组织块置固定染色液中,这对新鲜组织有三种作用,即固定、染色和脱水。常温下需 8~12 h,37℃ 恒温下 5~6 h;对固定好的保存材料,其作用是染色兼脱水,常温下 6~10 h,37℃ 下 4~6 h。这一步可以延长时间,长达两天也不会出现过染现象。

1.4 脱水 脱水时先用无水酒精浸洗组织块,除去余色,再用无水酒精脱水两次,每次 1 h。第一次脱水时,在组织块两面各垫几层纱布,并用适当的平面重物将其压住,使组织块随着脱水变硬而被压平,有利于机器切片时的操作。

1.5 透明 按常规法操作。初次透明用二甲苯和纯酒精等比混合液处理 2 h;再用纯二甲苯分别处理二次,共 2~3 h。

1.6 渗蜡 按常规法操作。所用石蜡熔点为 52~54℃,分Ⅲ级渗蜡:Ⅰ. 石蜡占 1/3 和二甲苯占 2/3;Ⅱ. 石蜡占 2/3 和二甲苯占 1/3;Ⅲ. 纯石蜡(处理二次)。每级处理 1 h,均在 60℃ 恒温箱内进行。

1.7 包埋和切片 按常规法操作。

1.8 蜡片粘贴 粘贴时在载片上滴上 30% 的酒精,使蜡片充分展平,再倾去酒精,自然干燥或温箱内干燥。

1.9 脱蜡、兰化与复染 切片用二甲苯脱蜡,无水酒精浸洗,用兰化液处理数秒钟(滴瓶操作),再用无水酒精冲洗掉兰化液,加曙红复染液 2~3 滴处理 3 s(滴瓶操作)。

1.10 透明与封存 按常规法操作。

2 结果与讨论

2.1 优质 H.E 染色即苏木精与曙红染色。该法中的苏木精染色类同于常规铁矾苏木精染色结果,使细胞

内的染色质、核仁等呈黑兰色,细胞质着色很淡,染色细致,层次分明,均匀一致,清晰度很高。特制曙红复染液使细胞质呈浅桃红色,与苏木精作对比染色,十分美观(图版 I:1~6,见封 2)。

2.2 简便 由于固定染色液中既含有染色成分,又含有固定及脱水成分,所以一次处理便可实现对组织块的固定、染色兼脱水作用。单以脱水而言,它脱去了组织块中 95% 的水分,把逐级脱水的工序简化为最后一级无水酒精脱水,免去了组织块切片围绕片染而进行的多道复水与脱水步骤。再以染色而言,又将媒染、染色和分色三者融为一体,同时进行。组织块染色省去了片染,代替了大量繁杂的操作过程,对制片厂来说,更为方便实用。

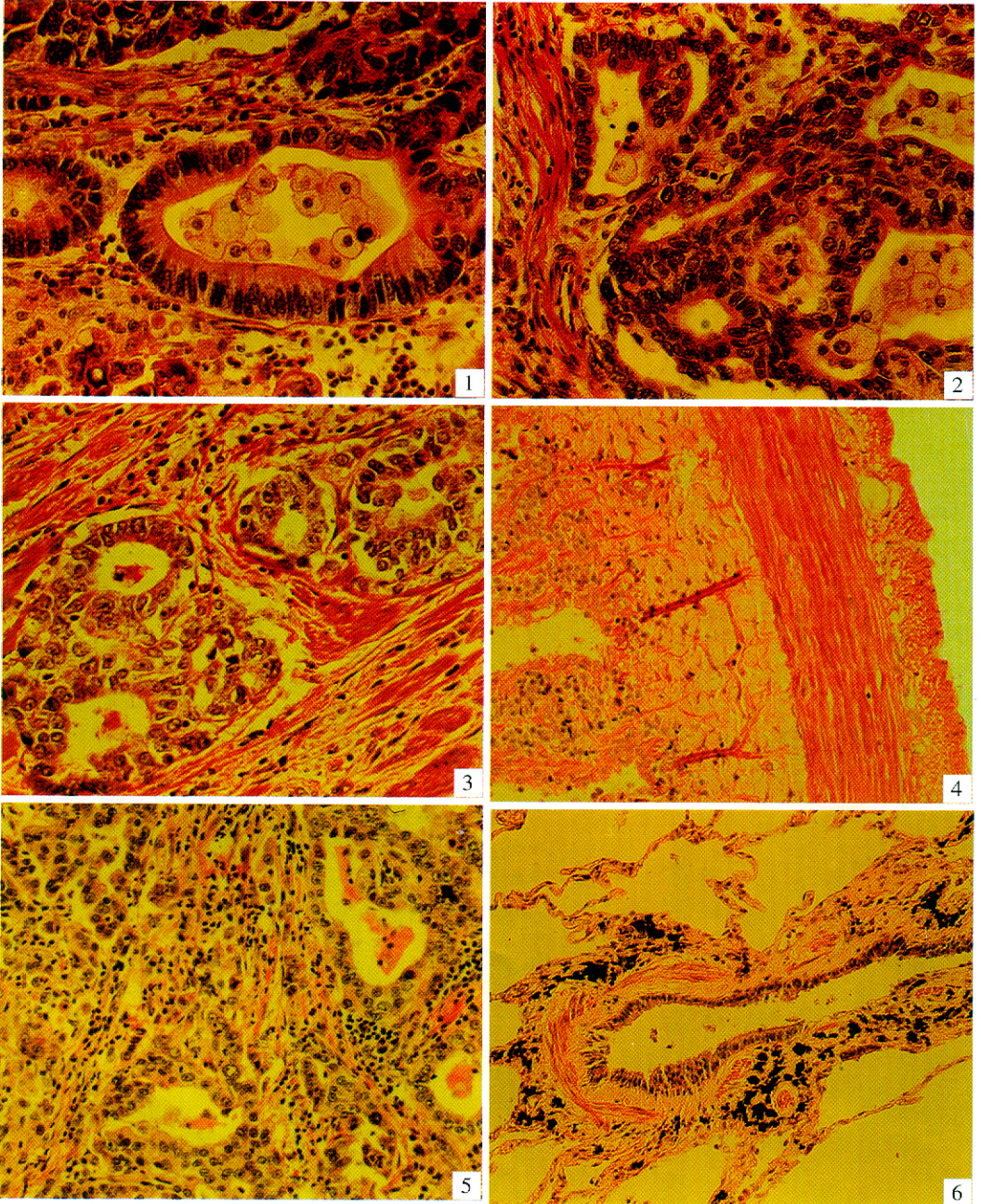
2.3 快速 简化操作程序加快了工作进程,从固定开始的全部制片过程,可以安排在 24 h 内完成,用于临床的病理检验,比常规法大大地缩短了检验时间。

由于程序简化,省去多道脱水过程,可以节省脱水剂和省去许多器皿;染色过程中无须媒染和分色,染色质量有保证。

该法简便快速和效果良好的技术核心是固定染色液的配制及组织块染色。固定染色液能将固定、染色和脱水同步进行的原理在于:该液所含的甲醇和冰醋酸配比合理,渗透迅速,能很快杀死并固定鲜活的细胞组织;甲醇和冰醋酸属亲水有机溶剂,在对组织起固定作用的同时,还有脱水作用,配比得当使甲醇的收缩作用和冰醋酸的膨胀作用互相弥补,相得益彰,材料不会变形;乙液中甲醇(取代传统配制用的乙醇)是良好的苏木精溶剂,甲液中 90% 冰醋酸的硫酸铁铵溶液,既是媒染剂,又是分色剂,甲、乙两液混合使用,可使苏木精染色时的媒染、染色和分色同时实现,着色既无不及,又无太过,保证了染色质量。采取组织块染色才能简化操作步骤,是该法简便快速的核心措施。

参 考 文 献

- [1] 曾小鲁主编. 实用生物学制片技术. 长沙:湖南教育出版社, 1989, 58.
- [2] 王蔚魁. 植物胚胎学研究中石蜡切片法的几种整体染色法. 遗传, 1981, 3(5): 33~35.



1-3. 人胃癌组织 $\times 250$, $\times 250$, $\times 125$; 4. 鲤鱼小肠壁横切 $\times 250$; 5. 大鼠肝组织 $\times 125$; 6. 人矽肺组织 $\times 125$