

**上海生物样本库**  
**最佳实践规范及标准操作流程**  
**文件汇编**  
**(第二版)**

2010年5月

<b>上海生物样本库</b> 质量管理体系文件				
文件名称	组织样本石蜡切片 HE 染色操作规程		编号	SOP-SC-007-01
批准人		批准日期	实施日期	

## 组织样本石蜡切片 HE 染色操作规程

### 1. 目的

规范组织样本石蜡切片进行 HE（苏木精-伊红）染色的处理操作。

### 2. 适用范围

适用于组织样本石蜡切片进行 HE 染色的操作流程。

### 3. 定义和术语

#### 3.1 组织样本

组织样本是指由捐赠者提供的，专业人员采集的组织，包括肿瘤、病变组织和其它对照组织（包含近癌组织、癌旁组织、正常组织等）。

#### 3.2 HE（苏木精-伊红）染色

脱氧核糖核酸（DNA）两条链上的磷酸基向外，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结合而被染色。苏木精在碱性溶液中称蓝色，所以细胞核被染成蓝色。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的阳离子结合使胞浆染色，细胞浆、红细胞、肌肉、结缔组织、嗜伊红颗粒等被染成不同程度的红色或粉红色，与蓝色的细胞核形成鲜明对比。

### 4. 职责

#### 4.1 样本管理员

对石蜡包埋的组织块切片进行 HE 染色。

### 5. 设备和器材

#### 5.1 个人防护装备

手套、口罩、实验防护服、护目镜及其它相关防护装备。

## 5.2 器材

镊子、烧杯、盖玻片。

## 5.3 设备

通风橱，切片扫描仪。

## 5.4 试剂

蒸馏水、80%乙醇、95%乙醇、无水乙醇、二甲苯、苏木精染色液、1%盐酸-乙醇、0.5%伊红液、中性树胶。

# 6. 主要流程

## 6.1 石蜡切片

组织样本采集和组织块石蜡包埋及切片的具体流程参见《组织样本采集操作规程》和《组织样本石蜡包埋及石蜡切片制作操作规程》。

## 6.2 HE 染色液试剂配制

### 6.2.1 Harri 苏木精染液：

苏木精	1g
无水乙醇	10ml
硫酸铝钾	20g
蒸馏水	200ml
氧化汞	0.5g
冰醋酸	8ml

用无水乙醇溶解苏木精，用蒸馏水加热溶解硫酸铝钾，然后将两液合并煮沸，加入氧化汞，继续加热和搅拌溶液至深紫色，用冰水冷却，恢复至室温后过滤备用。使用前加入冰醋酸并混匀、过滤。

### 6.2.2 0.5%伊红 Y 水溶液：

伊红 Y	0.5g
蒸馏水	100ml
冰醋酸	1 滴

### 6.2.3 盐酸-乙醇分化液

浓盐酸	1ml
70%乙醇	99ml

### 6.3 石蜡切片染色

- 6.3.1 二甲苯 I: 5~10 分钟
- 6.3.2 二甲苯 II: 5~10 分钟, 应保证彻底脱蜡。
- 6.3.3 无水乙醇 I: 1~3 分钟
- 6.3.4 无水乙醇 II: 1~3 分钟
- 6.3.5 95%乙醇 I: 1~3 分钟
- 6.3.6 95%乙醇 II: 1~3 分钟
- 6.3.7 80%乙醇: 1 分钟
- 6.3.8 蒸馏水: 1 分钟
- 6.3.9 苏木精液染色: 5~10 分钟
- 6.3.10 流水洗去苏木精液: 1 分钟
- 6.3.11 1%盐酸-乙醇: 1~3 秒
- 6.3.12 流水冲洗: 10~15 分钟
- 6.3.13 蒸馏水洗: 1~2 分钟
- 6.3.14 0.5%伊红液染色: 1~3 分钟
- 6.3.15 蒸馏水稍洗: 1~2 秒
- 6.3.16 80%乙醇: 1~2 秒
- 6.3.17 95%乙醇 I: 2~3 分钟
- 6.3.18 95%乙醇 II: 2~3 分钟
- 6.3.19 无水乙醇 I: 3~5 分钟
- 6.3.20 无水乙醇 II: 3~5 分钟
- 6.3.21 无水乙醇 III: 3~5 分钟
- 6.3.22 二甲苯 I: 3~5 分钟
- 6.3.23 二甲苯 II: 3~5 分钟
- 6.3.24 二甲苯 III: 3~5 分钟
- 6.3.25 中性树胶封固

### 6.4 染色结果和装片

6.4.1 HE 染色的结果是细胞核呈蓝色, 细胞质、肌纤维、胶原纤维和红细胞呈不同程度的红色。钙盐和细菌呈蓝色或紫蓝色。

6.4.2 用显微镜控制细胞核的苏木精染色质量，HE 染片应找色鲜艳，红、蓝分明，对比清晰。

6.4.3 染色完成后应立即用洁净的盖玻片和稠度适宜的中性树胶湿封载玻片。封盖处内无气泡，无外溢胶。

## 6.5 储存和切片扫描

6.5.1 封装完的载玻片应贴上标签，放入切片盒中，在室温条件下储存，储存的过程和要求参见《样本储存控制程序》和《组织样本储存操作规程》。

6.5.2 有条件的样本库可使用专业的切片扫描仪将 HE 染色的结果进行扫描，保存在样本信息管理系统中，作为同一初始条码样本的重要数据。

## 7. 相关文件

《组织样本采集操作规程》 SOP-SC-002-01

《组织样本石蜡包埋及石蜡切片制作操作规程》 SOP-SC-006-01

《样本储存控制程序》 SOP-SC-014-01

《组织样本储存操作规程》 SOP-SC-015-01

## 8. 参考标准与文献

*Biorepository Protocols*, Australian Biospecimen Network, 2007

*Common Minimal Technical Standards and Protocols*, WHO

*2008 Best Practices for Repositories • Collection, Storage, Retrieval and Distribution of Biological Materials for Research*, ISBER, 2008

*Best Practices for Biospecimen Resources*, National Cancer Institute, 2007

*临床技术操作规范·病理学分册*, 中华医学会, 2008