

伊红 Y 染色剂改良配制法

陈海明 芮菊生 唐静华

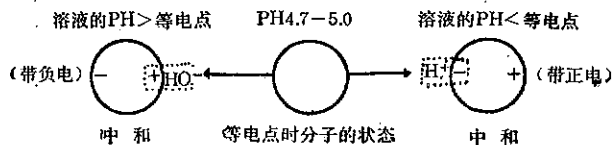
(复旦大学生物系)

伊红 Y 为染细胞浆、胶原纤维、肌纤维及嗜酸颗粒等常用的染料，直接配成 0.1—1% 水溶液或 0.1—1% 酒精性溶液，这是目前常用的配制方法，经过几年的实践和比较，认为这种配制法，易使细胞浆退色，过 1—3 年后，颜色会失去原来面貌，对观察切片的组织形态带来一定的困难。在配制上稍加改良，即能克服上述缺点。

原理 从伊红 Y 染色剂的结构式，可以看出酸性助色团使染料成为带负电荷的离子，很易与细胞中带正电荷或极性的内容物结合。而细胞浆的主要成分是蛋白质，其次也有核糖核酸、脂蛋白等，它们大都是两性离子的化合物，既有带负电的离子 (COO^- , PO_4^-)，也具有正电离子 ($-\text{N}^+\text{H}_3$, $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3-$)。

近似测定细胞浆的等电点在 $\text{pH}4.7-5.0$ 等电点时，分子正负离子等量，因此分子所带的电荷呈中性，酸碱染料都不能使其着色。

近似测得细胞浆的 pH 约为 $6.7-6.8$ 。此 pH 大于其等电点的 $\text{pH} 4.7-5.0$ ，说明细胞浆中的蛋白质等带负电。下图可说明：



溶液的 pH 小于等电时，使分子处于酸性溶液中，正电的 H^+ 与分子的负离子结合，使分子中本来等量的正负离子变成不等量，由于负离子被 H^+ 中和去一部分，使分子正电部分相对增多而带正电。溶液的 pH 大于等电点时，分子处于弱酸或碱性区而带负电。

根据上述原理，用冰醋酸处理伊红 Y 染色剂，增加 H^+ 浓度，在染色时，使细胞浆处于一定的酸性溶液中，使细胞浆中的蛋白质等带有正电方能与负电的酸性染料正负相吸以离子键形式结合而使细胞浆染上色，所以细胞浆的染色保持一定的酸区是必要的。

步骤^{1,2)} 取伊红 Y 1 克溶于 5 毫升蒸馏水中，待全部溶解后，用冰醋酸逐滴加入其溶液中，边滴边搅拌，直至沉淀形成为止，再加 2 毫升蒸馏水，继续滴加冰醋酸，使沉淀不再增加为止。

用滤纸过滤，去除滤液，留下沉淀物至烘箱或温箱中烘干。将烤干后伊红 Y 粉末，按需要配制不同的浓度

1) 芮菊生等 1980 组织切片技术 高等教育出版社
2) H. J. 科恩 1963 生物染色剂 科学出版社