

Grupa.....

Wrocław,

Imię i nazwisko studenta:

Imię i nazwisko prowadzącego:

.....

.....

Ćwiczenie nr 4.

Barwienia histologiczne. Barwienie H&E, znakowanie cytoplazmy, jądra i organelli komórkowych.

Hematoksylina i eozyna:

Barwienie hematoksyliną i eozyną (H&E) jest najczęściej stosowaną metodą barwienia przeglądowego w histologii. Hematoksylina jest naturalnym barwnikiem pozyskiwanym z amerykańskiego drzewa *Erythroxylon campechianum*. Używa się jej w postaci złożonych roztworów zawierających sole glinu, żelaza, chromu lub wolframu. Zawartość tych metali sprawia, że tkanka przyjmuje barwnik. Elementy zasadochłonne takie jak jądra komórkowe (grupy fosforanowe DNA), rybosomy, depozyty wapnia, bakterie G(+) barwią się na niebiesko (fioletowo). Po barwieniu, należy preparaty długo płukać w bieżącej wodzie, gdyż dopiero po wypłukaniu uzyskuje się czysto niebieskie zabarwienie jąder komórkowych. Eozyna jest bromową pochodną fluoresceiny, jest słabym kwasem i wykazuje silne powinowactwo do kwasochłonnych elementów komórki, takich jak białka cytoplazmy czy białka macierzy zewnątrzkomórkowej (kolagen i elastyna), włókna nerwowe, włókna gęłejowe i tym samym barwi je na czerwono (różowo).

Procedura barwienia hematoksyliną i eozyną:

1. Utrwalone komórki barwić przez 3 minuty w roztworze hematoksyliny poprzez zanurzenie w szklanym kominka z roztworem hematoksyliny);
2. Preparat przenieść do kominka z wodą destylowaną na 5 minut;
3. Płukać preparat pod bardzo delikatnym strumieniem bieżącej wody około 20 minut, aż do uzyskania niebieskiego zabarwienia jąder komórkowych (kontrola pod mikroskopem lub do widocznej makroskopowo zmiany zabarwienia skrawka)
4. Preparat barwić w roztworze eozyny przez 2 minuty poprzez zanurzenie szkiełka do szklanego kominka z roztworem eozyny;
5. Przepłukać preparat wodą destylowaną poprzez zanurzenie szkiełka w szklanym kominku z wodą destylowaną na 2 minuty;
6. Preparat odwodnić umieszczając go w roztworach alkoholu (80%, 90% i 96%) na 1 minutę (pod dygestorium)
7. Preparaty zamknąć za pomocą medium do zamykania preparatów (nakładamy kroplę medium DPX na szkiełko podstawowe i przykrywamy szkiełkiem nakrywkowym) pod dygestorium - DOKŁADNA KONTROLA PROWADZĄCEGO!!!