

REF 12388

15 ... 25 °C

Verwendungszweck:

Färben von Zellkernen

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verwendungszweck

Hämatoxylin bzw. Hämalan-Lösungen sind Zellkernfärbelösungen für die Histologie und Zytologie und werden für die „In-vitro-Diagnostik“ eingesetzt und werden für Kernfärbungen in Abstrichpräparaten, Dünnschichtpräparaten, Gefrierschnitten und Paraffinschnitten verwendet.

Prinzip

Hämatoxylin ist ein Naturfarbstoff, der aus dem Blauholzbaum (*Haematoxylon campechianum*) durch Extraktion gewonnen wird. Die Verwendung von Hämatoxylin als Kernfarbstoff ist seit 1865 bekannt und hat sich zu einer der am häufigsten angewandten Färbemethoden verbreitet. Grundlage der Hämalan-Färbung ist zunächst eine Oxidation des Hämatoxylin zu Hämatein und schließlich eine Verbindung des positiv geladenen Aluminium-Hämatein-Komplexes mit den negativ geladenen Phosphatgruppen der nukleären DNS. Hierbei entsteht die typisch blau-violette Farbe der Hämatoxylin-Färbemittel.

Reagenz

Wirksame Bestandteile

5 g Hämatoxylin (C.I.: 75290) (CAS-Nr.: 517-28-2, 475-25-2)
250 ml Ethanol 96 % vergällt (CAS-Nr.: 64-17-5)
810 ml Aqua dest. / VE-Wasser (CAS-Nr.: 7732-18-5)
80 g Aluminiumammoniumsulfat-Dodecahydrat p.A. (CAS-Nr.: 7784-26-1)
200 ml Glycerin wasserfrei (CAS-Nr.: 56-81-5)
1 Stk Filtrieren (Schnellfilter 125 µm) (CAS-Nr.:)
1 g Natriumiodat p.A. (CAS-Nr.: 7681-55-2)

Besondere Hinweise

Haltbarkeit: bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Entsorgung: Die Lösung ist nach dem angegebenen Verfallsdatum als chemischer Sondermüll zu behandeln und unter Einhaltung der lokalen Vorschriften sachgemäß zu entsorgen. Weitere Hinweise sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Leistungsmerkmale

Erwartete Ergebnisse:

Das Chromatin der Zellkerne sollte blau und Kerne deutlich sichtbar, sowie scharf umgrenzt sein. Durch Zugabe von Salzsäure oder Essigsäure für einen pH-Wert < 2,0 kann die Farbe der Kerne ins rötliche umschlagen.

Das Zellplasma weist Färbungen auf, die von der verwendeten Gegenfärbung abhängig sind.

Vorbereitung und Vorsichtsmaßnahmen

Prüfung:

Vor jeder Verwendung ist die Lösung auf ihre Tauglichkeit hin zu prüfen. Die Lösung kann nicht mehr verwendet werden, wenn ein Farbtropfen auf einem Filterpapier eine braune Farbe annimmt, der bei Spülen in Leitungswasser nach einer Wartezeit von etwa 20 Minuten nicht in einen blauen Farbton umschlägt.

Vorsichtsmaßnahmen:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten die üblichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Es sollte nur eingewiesenes Personal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Probennahme:

Die Entnahme von Proben erfolgt nach den üblichen Vorgehensweisen. Hierbei ist zu gewährleisten, dass frische Proben unmittelbar nach Probennahme ordnungsgemäß fixiert werden. Hämatoxylin-Lösungen können nach Fixierung in Lösungen mit Formalin, Paraformaldehyd, Glutardialdehyd, Pikrinsäure, Sublimat, Kaliumdichromat, Ethanol und Methanol angewandt werden. Die Fixierung bestimmt die Intensität des Färberegebnisses.

Hinweise zur Durchführung:

Die Färbung ist von Fachpersonal durchzuführen, und es ist zu gewährleisten, dass alle Proben nach dem Stand der Technik zu behandelt werden. Diagnosen dürfen nur von autorisierten Personen erstellt werden. Weitere Untersuchungen müssen nach anerkannten Methoden erfolgen.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien und Materialien

REF 12388

15 ... 25 °C

Verwendungszweck:

Färben von Zellkernen

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verfahren

Verwendung:

Das Reagenz wird als Kernfarbstoff in verschiedenen Färbeprozessen der Histologie und Zytologie angewendet. Eine Färbung wird bei fixierten und unfixierten Gewebeproben erzielt. Vor der Färbung ist die Gewebeprobe ggf. zu Entparaffinieren und zu Wässern. Die Färbung kann progressiv oder regressiv erfolgen. Bei einer progressiven Färbung wird überschüssige Farbe durch kurzes Spülen in Aqua dest. ausgewaschen und der Farbstoff durch Spülen in Leitungswasser oder Scott'schen Lösung (Artikel 11192) zu einem wasserunlöslichen Lack umgewandelt ("Bläuen"). Bei einer regressiven Färbung wird durch längeres Färben ("Überfärben") durch anschließendes Spülen in Salzsäure-Lösung (Artikel 10372) differenziert. In einem Färbeprotokoll ist die Verwendung eines Hämatoxylinfarbstoffes grundsätzlich als erster Färbeschritt nach der Entparaffinierung oder Entplastung bzw. nach der Wasserung frisch fixierter Proben durchzuführen.

Ein typisches Färbeprotokoll sieht wie folgt aus:

progressiv (insbes. für Hämalane):

- (1) Entparaffinieren
- (2) absteigende Alkoholreihe: 96 % - 80 % - 70 % - 60 %
- (3) Aqua dest.
- (4) Hämatoxylin-/Hämalaun-Lösung: 2 - 15 min
- (5) Aqua dest oder 0,1%ige Salzsäure: 10 - 30 sek
- (6) fließend Wässern: 2 - 15 min
- (7) Gegenfärbung, weitere Färbeschritte
- (8) aufsteigende Alkoholreihe und eindecken

regressiv (insbes. für Eisen-Hämatoxyline):

- (1) Entparaffinieren
- (2) absteigende Alkoholreihe: 96 % - 80 % - 70 % - 60 %
- (3) Aqua dest.
- (4) Hämatoxylin-/Hämalaun-Lösung: 15 - 30 min
- (5) fließend Wässern: 10 - 20 min
- (6) Gegenfärbung, weitere Färbeschritte
- (7) aufsteigende Alkoholreihe und eindecken

Literaturangaben

Literatur zu diesem Verfahren



Allgemeine Literatur zu diesem und ähnlichen Verfahren

1. BANCROFT, J. D. & GAMBLE, M. (2002): Theory and practice of histological techniques. 5th Edition. Churchill Livingstone (Edinburg, London, New York).
2. BÖCK, P. (1989): Romeis: Mikroskopische Technik. – 17. Auflage, Urban & Schwarzenberg (München, Wien, Baltimore).
3. BURCK, H.-C. (1988): Histologische Technik – Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. – 6. Auflage, Thieme Verlag (Stuttgart, New York).
4. HOROBIN, R. W. & KIERNAN, J. A. (2002): CONN's Biological Stains – A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochrome for Use in Biology and Medicine.
5. MULISCH, M. & WELSCH, U. (2010): Romeis – Mikroskopische Technik. – 18. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag (Heidelberg)

Ergebnisbeispiel

