**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 jest najczęściej stosowaną metodą barwienia przeglądowego
w histologii. Elementy zasadochłonne (np. jądra komórkowe) barwią się na niebiesko, elementy
kwasochłonne na czerwono.

Hematoksylina jest naturalnym barwnikiem pozyskiwanym z amerykańskiego drzewa *Erytroxylon campechianum*. Używa się jej w postaci złożonych roztworów zawierających sole glinu, żelaza, chromu lub wolframu. Zawartość tych metali sprawia, że tkanka przyjmuje barwnik. Po zabarwieniu, należy preparaty długo płukać w bieżącej wodzie, gdyż dopiero po wypłukaniu uzyskuje się czysto niebieskie zabarwienie jąder komórkowych.

Eozyna jest bromową pochodną fluoresceiny. Jest to barwnik o właściwościach kwasowych,
wykazujący silne powinowactwo do kwasochłonnych elementów komórki. Zajmuje też ważne miejsce
w metodach barwienia hematologicznego jako składnik barwników Giemsy, May – Grünwalda,
Wrighta.

**Procedura barwienia:**

Naklejone i odparafinowane skrawki najpierw należy nawadniać w szeregu alkoholowym;
1. Umieścić preparaty komórkowe lub skrawki na 2-3 minuty w roztworze PBS (buforu fosforanowego);
2. Barwić komórki/skrawki przez 1-1.5 minuty w roztworze hematoksyliny;
3. Przebarwione komórki/skrawki odbarwiać przez 2-3 sek. w zakwaszonym alkoholu (0,25 ml HCl na 100ml alkoholu 70%);
4. Spłukać preparat pod bieżącą wodą aż do uzyskania niebieskiego zabarwienia jąder
komórkowych (kontrola pod mikroskopem lub do widocznej makroskopowo zmiany
zabarwienia skrawka);
5. Barwić w roztworze eozyny przez 3 min.;
6. Preparaty komórkowe umieścić w wodzie destylowanej na 5 minut;
8. Preparaty odwodnić, odwodnić w szeregu alkoholowym, wysuszyć i zamknąć w medium do zamykania preparatów (POD OPIEKĄ PROWADZĄCEGO, WYŁĄCZNIE POD DYGESTORIUM!!! ).