

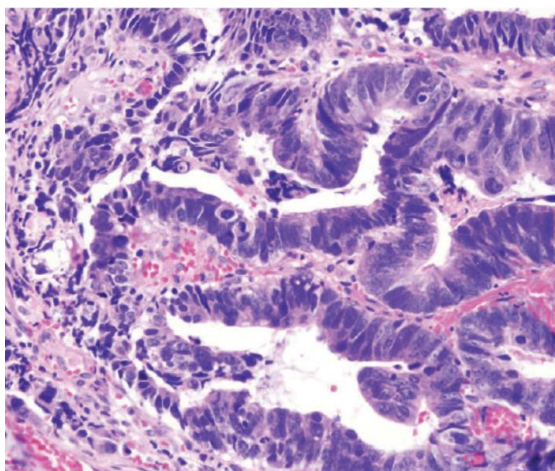


## mmi protocol-HE 染色

mmi H&E染色试剂盒是一种优化的染色剂，可与后续显微切割配合使用，尤其适用于激光显微切割后下游进行RNA分析的实验。为了最大化RNA回收率并保持RNA完整性，染色试剂的成分、染色时间和漂洗步骤已经过优化。苏木精（核染料-蓝色）使用了一种渐进的染色技术，其染色的强度与时间相关。若染色过度，则需要使用酸醇进行清洗。伊红（细胞质染色-粉红色）使用一种回归性的染色技术，首先将组织进行过度染色，然后脱色到合适的终点。此protocol是使用mmi H&E染色试剂盒（PN: 70301）进行H&E染色的指南。

### 材料:

- 二甲苯
- 异丙醇
- 无RNA酶的水



### 方法

#### 对于冷冻组织切片或者细胞涂片

- 1、将组织在70%异丙醇内固定30s
- 2、用无RNase水冲洗膜片
- 3、将solution1涂在切片组织上，孵育90s(较厚的组织孵育时间长, 薄的组织孵育时间短)
- 4、用无RNase水冲洗
- 5、将solution2涂在切片组织上，孵育30s  
(如果需要较强的染色结果，则先将solution2放在37°C水浴中平衡)
- 6、用70%异丙醇冲洗
- 7、将solution3涂在切片组织上，孵育5s  
(该试剂中包括使着色增强的成分)
- 8、用70%异丙醇冲洗

- 9、在100%异丙醇内脱水2min

- 10 在烘箱内干燥。

#### 对于FFPE切片

- 1、在二甲苯内进行两次脱蜡，每次3min
- 2、将膜片放置于100%异丙醇内60s
- 3、将组织在70%异丙醇内固定30s
- 4、用无RNase水冲洗膜片
- 5、将solution1涂在切片组织上，孵育90s(较厚的组织孵育时间长, 薄的组织孵育时间短)
- 6、用无RNase水冲洗
- 7、将solution2涂在切片组织上，孵育30s  
(如果需要较强的染色结果，则先将solution2放在37°C水浴中平衡)
- 8、用70%异丙醇冲洗
- 9、将solution3涂在切片组织上，孵育5s  
(该试剂中包括使着色增强的成分)
- 10 用70%异丙醇冲洗
- 11 在100%异丙醇内脱水2min
- 12 在烘箱内干燥。

### 注意

若染色后颜色过深，则可缩短染色时间或者在清洗的溶液（无RNase水或异丙醇）中加入solution1或者solution3。若染色不足，可增加染色时间。若solution3的效果过强，可使用70%异丙醇进行1:1稀释。Solution3试剂会有自发荧光，若影响后续实验（如裂解后进行RT-PCR），可跳过此步骤或者在进行RT-PCR前进行DNA/RNA纯化。