

普鲁士蓝染色试剂盒（核固红法）

货号: G1422

有效期: 12个月

产品内容:

		2×50ml	2×100ml	Storage
试剂(A):	A1: Perls stain A	25ml	50ml	RT
Perls stain	A2: Perls stain B	25ml	50ml	RT
临用前, 取 A1、A2 等量混合, 即为 Perls stain, 不宜提前配制。				
试剂(B): 核固红染色液		50ml	100ml	RT 避光

产品说明:

含铁血黄素(Hemosiderin)是一种血红蛋白源性色素,为金黄色或棕黄色颗粒,因其含铁、金黄色,故称为含铁血黄素。当红细胞被巨噬细胞吞噬后,在溶酶体酶的作用下,血红蛋白被分解为不含铁的橙色血质和含铁的含铁血黄素。

Perls 普鲁士蓝反应(Prussian blue reaction)又称为含铁血黄素染色,即经过亚铁氰化钾和稀酸处理后可以产生蓝色,常见于吞噬细胞内会间质内,主要显示三价铁盐。Perls 普鲁士蓝是非常经典的组织化学反应,是显示组织内三价铁的一种敏感、传统优良的方法,其染色原理为:亚铁氰化钾溶液使三价铁离子从蛋白质中被稀盐酸分离出来,三价铁与亚铁氰化钾反应,生成一种不溶解的蓝色化合物即三价铁的亚铁氰化物普鲁士蓝,所以该反应被称为普鲁士蓝反应。三价铁的亚铁氰化物是一种很稳定的化合物,在反应后可用红色染色剂进行复染,如核固红、伊红、中性红等。

Perls stain 常用于显示局部组织内各种出血性病变,常见于吞噬细胞内。在判断含铁血黄素沉积时,用 Perls 反应可以得到证实,该染色方法可以很好的区分含铁血黄素和其他色素。该染色液稳定性好、可以长期保存、不易产生沉淀、应用范围广、可以进行复染。该染色液的复染液采用核固红,是最经典、最常用的复染液。

自备材料:

1. 10%的中性福尔马林
2. 系列乙醇
3. 蒸馏水
4. 4%的多聚甲醛

操作步骤(仅供参考):

(一) 石蜡切片染色

- 1、组织固定于 10%中性福尔马林,常规脱水包埋。
- 2、切片厚度 4um,常规脱蜡至水。
- 3、蒸馏水水洗 1min。
- 4、切片入 Perls stain (见注意事项 4),浸染 15-30min。

- 5、蒸馏水充分冲洗 2-5min。
- 6、入核固红染色液，淡染细胞核 5-10min。
- 7、自来水冲洗 1-5s。
- 8、常规脱水透明，中性树胶封固。

(二) 冰冻切片染色

- 1、无需脱蜡，直接迅速用蒸馏水冲洗 2~3min。
- 2、染色、水洗、透明、封固步骤同石蜡切片的染色步骤。

(三) 细胞染色

- 1、4%多聚甲醛固定 10~20min。
- 2、自来水冲洗 2 次，每次 2min。
- 3、蒸馏水冲洗 2 次，每次 2min。
- 4、染色、水洗、透明、封固步骤同石蜡切片的染色步骤。

染色结果：

含铁血黄素或三价铁	蓝色
细胞核、其他组织	红色

阴性对照（可选）

取相同连续切片脱蜡至水。置于 5%的草酸中，孵育 2-6h 后，经 Perla stain，需要步骤同上。结果为阴性。

注意事项：

- 1、切片脱蜡应尽量干净。
- 2、组织固定常采用 10%的中性福尔马林，经普通福尔马林长期固定后，组织会有损伤。避免使用酸性固定剂，酪酸盐处理也会妨碍铁的保存。
- 3、整个操作过程中容器要干净，避免使用金属铁制品，洗切片和容器时以蒸馏水为宜，因普通水内含铁质。
- 4、Perls stain 染色时，应根据样本情况调整着色时间。
- 5、所有检查切片都应使用同一个阳性对照切片，选择适合的对照非常重要。尸检肺组织是一个很好的对照，包含相当数量的铁阳性巨噬细胞(心衰细胞)。
- 6、系列乙醇应经常更换新液。
- 7、冰冻切片和细胞的染色，最好根据具体情况摸索实验条件。
- 8、为了您的健康和安安全，请穿实验服并戴一次性手套操作。