上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

普鲁士蓝染色液(DAB 增强法)

简介：

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，且为金黄色，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。含铁血黄素染色又称为 Perls 普鲁士蓝反应(Prussian blue reaction)，用于显示局部组织内的各种出血性病变，常见于吞噬细胞内，可以很好地区分含铁血黄素与其他色素。

普鲁士蓝染色液(DAB 增强法)其染色原理是组织中的三价铁离子从蛋白质中被稀盐酸分离出来，与亚铁氰化钾形成一种不溶解的蓝色的亚铁氰化铁沉淀而显示出组织中的高含量铁元素，当组织中的铁元素含量极少时，该染色不能显示出蓝色定位铁元素，加入 DAB 后，与亚铁氰化铁沉淀发生氧化还原反应形成棕色化合物，增强了检测的特异性，特别适用于组织铁含量较少的组织。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

组成：

名称 \ 编号		R27072 5×50ml	Storage
试剂(A): Perls Stain	A1: Perls Stain A	25ml	RT
	A2: Perls Stain B	25ml	RT
试剂(B): DAB Stain	B1：DAB 试剂	1 支	4℃ 避光
	B2：DAB 氧化剂	1 支	4℃
	B3：DAB buffer	2×50ml	RT
试剂(C): 苏木素染色液		50ml	RT
试剂(D): 酸性乙醇分化夜		50ml	RT
说明书		一份	

自备材料：

1、固定液：10%中性福尔马林、4%多聚甲醛等

2、系列乙醇、蒸馏水

3、二甲苯或浸蜡脱蜡透明液

操作步骤(仅供参考)：

临用前配制 Perls Stain 和 DAB Stain：

①配制 Perls Stain：将 Perls Stain A 和 Perls Stain B 等量混合即为 Perls Stain，不宜提前配制。

②配制 DAB Stain：取 1 支 DAB 试剂加入到 30ml DAB buffer 中，充分溶解待用，为 DAB 溶液；取 1μl DAB 氧化剂加入到 10ml DAB buffer 中，充分混合，为 DAB 氧化工作液；临用前将 DAB 溶液与 DAB 氧化工作液等比例混合，即为 DAB Stain。

(一)石蜡切片染色

1、组织固定于 10%中性福尔马林固定液，常规脱水包埋。

2、切片厚度 4μm，常规二甲苯或浸蜡脱蜡透明液脱蜡至水，蒸馏水水洗 1min。

3、切片入 Perls Stain(见注意事项 2)浸染 15～30min。

4、蒸馏水充分冲洗 2～5min。

5、滴加 DAB Stain 染色 5～10min，显微镜下控制显色程度，倾去染液用 DAB buffer 浸洗 1 次，蒸馏水洗 3 次。

6、苏木素染色 1～2min，自来水洗，酸性乙醇分化夜分化 2~5s，自来水洗 5～10min。

7、常规脱水，二甲苯或浸蜡脱蜡透明液透明，中性树胶封固。

8、显微镜镜检，图像采集分析。

(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、封固步骤同石蜡切片的染色步骤，时间可以相应缩短。

染色结果：

含铁血黄素或三价铁	棕褐色
细胞核	浅蓝色
背景或其他组织	浅棕色或无色

阴性对照(可选)：

取相同切片脱蜡至水；入 5%草酸孵育 2～6h，经 Perls Stain，其余步骤同上；结果为阴性。

注意事项：

1、切片脱蜡应尽量干净，组织固定常采用 10%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，铬酸盐处理也会妨碍铁的保存。

2、整个操作过程中容器要干净，避免用金属铁制品，洗切片和容器时以蒸馏水为宜，因普通水内含铁质；Perls Stain 染色时应根据样本情况调整着色时间。

3、所有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)。

4、DAB 溶液配制后应-20℃保存，可短期 4℃保存；DAB 氧化工作液可短期 4℃保存，不宜久置，应经常更换新液。如染色效果不好，可增加 DAB 氧化工作液中氧化剂的加入量。

5、在 DAB 的显色过程中，每隔约 5min 需要在显微镜下观察显色效果，由普鲁士蓝染出的弱阳性(即浅蓝色)被 DAB 替代形成棕色或者无蓝色的部位变成棕色即可。

有效期： 12 个月有效。4℃运输，4℃保存。