



石蜡切片 TUNEL 实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	武汉俊杰电子有限公司	JJ-12J
包埋机	武汉俊杰电子有限公司	JB-P5
病理切片机	上海徠卡仪器有限公司	RM2016
冻台	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	浙江省金华市科迪仪器设备有限公司	KD-P
烤箱	上海一恒科学仪器有限公司	DHG-9140A
载玻片	江苏世泰实验器材有限公司	
盖玻片	江苏世泰实验器材有限公司	10212432C
微波炉	格兰仕微波炉电器有限公司	P70D20TL-P4
脱色摇床	Servicebio	TSY-B
涡旋混合器	Servicebio	MX-F
掌上离心机	Servicebio	D1008E
移液枪	Dragon	KE0003087/KA0056573
组化笔	BIOSHARP	BC004
扫描仪	3DHISTECH	Pannoramic MIDI

2、主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	
PBS 缓冲液	Servicebio	G0002
蛋白酶 K	Servicebio	G1205
破膜液	Servicebio	G1204
苏木素染液	Servicebio	G1004



苏木素分化液	Servicebio	G1039
苏木素返蓝液	Servicebio	G1040
中性树胶	Servicebio	G1403
组化试剂盒 DAB 显色剂	索莱宝	DA1016
Tunel 试剂盒	茹创	RCT

二、实验步骤

- 1、石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯 I 15min-二甲苯 II 15min-无水乙醇 I 5min-无水乙醇 II 5min-85%酒精 5min-75%酒精 5min-蒸馏水洗。(冬天应该适当延长脱蜡时间)
- 2、修复：**组织切片置于盛满柠檬酸钠抗原修复缓冲液的修复盒中于微波炉内进行抗原修复，中火 8min，停火 8min 保温再转中低火 7min，此过程中应防止缓冲液过度蒸发，切勿干片。自然冷却后将玻片置于纯水中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。
- 3、加反应液：**按片子数量和组织大小取 tunel 试剂盒内适量 TDT 酶 :反应液按 1:50 比例混合，加到圈内覆盖组织，切片平放于湿盒内，37℃恒温箱孵育 1 小时，湿盒内加少量水保持湿度
- 4、hrp 二抗孵育以及 DAB 显色：**玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min，然后 hrp 二抗工作液室温孵育 25min (hrp 二抗工作液，Streptavidin-HRP: PBST=1:1000)，；玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min；DAB 反应液 (客户自备) 显色
- 5、苏木素复染细胞核：**苏木素复染 3min 左右，自来水洗，苏木素分化液分化数秒，自来水冲洗，苏木素返蓝液返蓝，流水冲洗。
- 6、脱水封片：**将切片依次放入 75%酒精 5min-85%酒精 5min --无水乙醇 I 5min -无水乙醇 II 5min -二甲苯 I 5min 中脱水透明，将切片从二甲苯拿出来稍晾干，中性树胶封片。
- 7、镜检拍照：**切片于明场显微镜下观察并采集图像。

三、结果判读

苏木素染细胞核为蓝色，DAB 显出的阳性表达为棕黄色

实验结果仅供科研用途，不可用于临床诊断！