



组织芯片制作实验报告

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
冻台	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
病理切片机	上海徕卡仪器有限公司	RM2016
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	天津市莱玻璃仪器设备有限公司	GFL-230
正置光学显微镜	日本尼康	NIKON ECLIPSE E100
成像系统	日本尼康	NIKON DS-U3
组织芯片取样手柄	Servicebio	SH-10, 15,20,30,50
受体底座蜡块	Servicebio	RP-10, 15,20,30,50

2、主要实验试剂

试剂	厂家	货号
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023418
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	100092683
HE 染液	Ketubio	BL-RS-06
盐酸	国药集团化学试剂有限公司	10011008
氨水	国药集团化学试剂有限公司	10002118
中性树胶	国药集团化学试剂有限公司	10004160

二、石蜡切片制作

1、取材：新鲜组织用固定液固定24h以上。将组织从固定液取出在通风橱内用手术刀将目的部位组织修平整，将修切好的组织和对应的标签放于脱水盒内。

2、脱水浸蜡：将脱水盒放进脱水机内依次梯度酒精进行脱水。75%酒精4h-85%酒精2h-90%酒精2h-95%酒精1h-无水乙醇I 30min-无水乙醇II 30min-醇苯5-10min-二甲苯I 5-10min-二甲苯II 5-10min-65℃融化石蜡I 1h-65℃融化石蜡II 1h-65℃融化石蜡III 1h。

3、包埋：将浸好蜡的组织于包埋机内进行包埋。先将融化的蜡放入包埋框，待蜡凝固之前将组织从脱水盒内取出按照包埋面的要求放入包埋框并贴上对应的标签。于-20℃冻台冷却，蜡凝固后将蜡块从包埋框中取出并修整蜡块。

4、切片：将修整好的蜡块，放入-20℃冻台冷却，再将冷却的蜡块置于石蜡切片机切片，厚4μm。切片漂浮于摊片机40℃温水上将组织展平，载玻片将组织捞起，60℃烘箱内烤片。水烤干蜡烤化后取出常温保存备用。

三、HE染色与定位

1、石蜡切片脱蜡至水：依次将切片放入二甲苯 I 20min-二甲苯 II 20min-无水乙醇 I 5min-无水乙醇 II 5min-75%酒精5min，自来水洗。

2、苏木素染色：切片入苏木素染3-5min，自来水洗，分化液分化，自来水洗，返蓝液返蓝，流水冲洗。

3、伊红染色：切片依次入85%、95%的酒精脱水各5min，入伊红染液中染色5min。

4、脱水封片：将切片依次入无水乙醇 I 5min -无水乙醇 II 5min -无水乙醇 III 5min-二甲苯 I 5min -二甲苯 II 5min透明，中性树胶封片。

5、显微镜镜检，确定芯片取点部位。

四、组织芯片制作

1、根据组织点的制备要求选取相应规格的组织芯片取样器和受体蜡块；

2、根据HE定位用取样器对目的部位的组织点进行取样，得到供体的组织柱。按照芯片矩阵要求，将所取的供体组织柱点按既定的顺序依次注入到相应受体蜡块孔内；

3、利用组织芯片融合仪对供体组织柱点和受体蜡块进行多次反复融合，使二者完全融合制作成组织芯片蜡块。

五、组织芯片切片

1、将修整好的组织芯片蜡块置于石蜡切片机上切片，片厚4μm。切片漂浮于摊片机40℃温水上将组织展平，用载玻片将组织捞起，并放进60℃烘箱内烤片。待水烤干蜡烤化后取出常温保存备用。
