



## 石蜡切片免疫组化实验报告

### 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	上海徕卡仪器有限公司	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	Servicebio	
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	Gene tech	GT1001
扫描仪	3DHISTECH	Pannoramic MIDI

#### 2、主要实验试剂

试剂	厂家	货号	稀释比
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		
EDTA (PH8.0)抗原修复液	Servicebio	G1206	
EDTA(PH9.0)抗原修复液	Servicebio	G1203	
柠檬酸 (PH6.0)抗原修复液	Servicebio	G1202	
PBS 缓冲液	Servicebio	G0002	
3%双氧水	Servicebio	G0115	
BSA	Servicebio	G5001	



正常兔血清	Servicebio	G1209
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
hrp 山羊抗兔	Servicebio	GB23303
hrp 山羊抗小鼠	Servicebio	GB23301
组化试剂盒 DAB 显色剂	索莱宝	DA1016

## 2.1 抗体信息及修复条件

抗原修复条件	一抗名称	一抗货号	一抗厂家	一抗稀释比	对应的二抗名称	二抗对应的稀释比

## 二、实验步骤

- 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-二甲苯 III 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。
- 抗原修复：**组织切片抗原修复方式见上表，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 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。
- 阻断内源性过氧化物酶：**切片放入 3%双氧水溶液，室温避光孵育 20 min，将玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。
- 血清封闭：**在组化圈内滴加 3%BSA 均匀覆盖组织，室温封闭 30min。（一抗是山羊来源的用兔血清封闭，其他来源的用 BSA 封闭）
- 加一抗：**轻轻甩掉封闭液，在切片上滴加 PBS 按一定比例配好的对应一抗，切片平放于湿盒内 4℃ 孵育过夜。（湿盒内加少量水防止抗体蒸发）
- 加二抗：**玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗（HRP 标记）覆盖组织，室温孵育 50min。
- 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。切片稍甩干后在圈内滴加新鲜配制的 DAB 显色液，显微镜下控制显色时间，阳性为棕黄色，自来水冲洗切片终止显色。
- 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。
- 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，中性树脂封片。

10、显微镜镜检，图像采集分析。

### 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！**