



PPT

(precision pathology technique)

广州市粤斌医学研究有限公司

软组织免疫组化实验报告



一、实验对象

标本

二、实验器材及试剂

1、实验器材

| 名称 | 厂家 | 型号 |
|---------|------------------|------------------|
| 脱水机 | 上海徠卡仪器有限公司 | JJ-12J |
| 包埋机 | 上海徠卡仪器有限公司 | JB-P5 |
| 病理切片机 | 上海徠卡仪器有限公司 | RM2016 |
| 冻台 | 上海徠卡仪器有限公司 | 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 | 上海慧泰仪器制造有限公司 | DHG-9140A |
| 载玻片及盖玻片 | 江苏世泰实验器材有限公司 | 10212432C |
| 正置光学显微镜 | 日本尼康 | NIKON ECLIPSE CI |
| 成像系统 | 日本尼康 | NIKON DS-U3 |

2、主要实验试剂

| 试剂 | 厂家 | 货号 |
|----------|---------------|----------|
| 无水乙醇 | 天津市大贸化学试剂厂 | |
| 二甲苯 | 天津市大贸化学试剂厂 | |
| 苏木素-伊红染液 | 南京森贝伽生物科技有限公司 | SBJ-0446 |
| 中性树胶 | 北京索莱宝科技有限公司 | |
| 一抗 | | |
| 二抗 | | |

三、组织石蜡包埋切片实验步骤

- 取材：**新鲜组织固定于4%多聚甲醛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。
- 脱水：**将脱水盒放进吊篮里于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--100%乙醇I 30min--100%乙醇II 30min--100%乙醇II I 30min--二甲苯I 15-30min--二甲苯II 15-30min --蜡I 1h--蜡II 1h--蜡III 1h。
- 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。
- 切片：**将修整好的蜡块置于石蜡切片机上切片，片厚3-5 μ m。切片漂浮于摊片机45℃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。

四、免疫组化实验步骤

- 石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯 I 10min-二甲苯 II 10min--无水乙醇 I 10min-无水乙醇 II 10min-95%酒精5min-90%酒精5min-80%酒精5min-70%酒精5min-流水洗5min-蒸



PPT

(precision pathology technique)

馏水洗；

- 2、枸橼酸修复30min；
- 3、PBS(1-3缸)洗3-5min；
- 4、3%过氧化氢室温10min；
- 5、PBS(1-3缸)洗3-5min；
- 6、一抗4度孵育12h；
- 7、PBS(1-3缸)洗3-5min；
- 8、二抗37度孵育30min；
- 9、PBS(1-3缸)洗3-5min；
- 10、DAB显色；
- 11、苏木素复染3-5min；
- 12、盐酸酒精分化；
- 13、梯度酒精脱水，二甲苯透明，晾干，中性树胶封片。

广州市粤斌医学研究有限公司