



**PPT**

(precision pathology technique)

---

# 广州市粤斌医学研究有限公司

## 免疫荧光实验报告



## 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

- 1、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。
- 2、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。
- 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：**将修整好的蜡块置于石蜡切片机上切片，片厚3-5μm。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、免疫荧光(双标) 实验步骤



# PPT

(precision pathology technique)

---

- 1、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-蒸馏水洗。
- 2、EDTA水浴高火修复5min，中火15min，隔水冷却30 min。
- 3、蒸馏水洗3min，PBS(1-3缸)洗3-5min。
- 4、血清封闭37度60 min。
- 5、一抗4度孵育12h。
- 6、室温复温30 min
- 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、荧光封片剂封片。

广州市粤斌医学研究有限公司