



PPT

(precision pathology technique)

广州市粤斌医学研究有限公司

TUNEL检测（白光）实验报告

广州市粤斌医学研究有限公司

电话:020-8478 4010

地址:广州市番禺区南村镇兴业大道 28 号华鑫大厦 1 栋 5 楼空中花园 502 室



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3-5 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、TUNEL(白光) 实验步骤

广州市粤斌医学研究有限公司

电话:020-8478 4010

地址:广州市番禺区南村镇兴业大道 28 号华鑫大厦 1 栋 5 楼空中花园 502 室



- 1、脱蜡至水。
- 2、滴加蛋白酶K37度，15到30分钟。
- 3、用PBS或HBSS洗涤3次。
- 4、在碧云天生产的内源性过氧化物酶封闭液(P0100A)或PBS配制的0.3%过氧化氢溶液(0.3% H₂O₂ in PBS)中室温孵育20分钟，以灭活切片内源的过氧化物酶。随后用PBS或HBSS洗涤3次。
- 5、配制生物素标记液1:9配置。
- 6、在样品上加50 μ l生物素标记液，37℃避光孵育60分钟。
- 7、用PBS或HBSS洗涤1次，滴加0.1-0.3ml标记反应终止液，室温孵育10分钟。
- 8、用PBS或HBSS洗涤3次。
- 9、Streptavidin-HRP工作液的配制：1:49配置。
- 10、样品的显色：在样品上加50 μ l Streptavidin-HRP工作液，室温孵育30分钟。
用PBS或HBSS洗涤3次。
- 11、DAB显色液的配制：按照每个样品使用0.2-0.5ml显色液的比例配制适量DAB显色液。等体积混合适量DAB显色液A和DAB显色液B，充分混匀后即为DAB显色液。
- 12、滴加0.2-0.5ml DAB显色液，室温孵育5-30分钟或根据显色情况孵育适当时间。
- 13、用PBS或HBSS洗涤3次。
- 14、苏木素染色液进行细胞核染色。随后用PBS或HBSS洗涤3次。
- 15、用95%乙醇脱水5分钟，再用100%乙醇脱水2次，每次约3分钟，再用二甲苯透明2次，每次5分钟，随后中性树胶封片观察。

广州市粤斌医学研究有限公司