



(21)申请号 201911364741.7

(22)申请日 2019.12.26

(71)申请人 武汉三鹰生物技术有限公司

地址 430000 湖北省武汉市东湖高新区高新大道666号D3-3

(72)发明人 张蜜 胡丽萍 赵应斌

(51)Int.Cl.

G01N 1/30(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

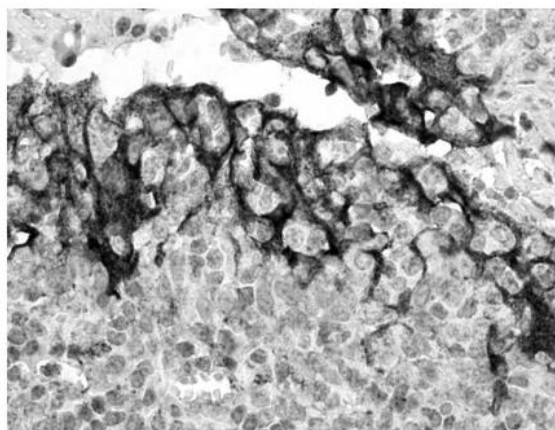
权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法

(57)摘要

本发明公开了一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法,所述封闭液包含如下按重量份计组分:1000mL的1×TBS(Tris盐酸缓冲液)、20-60g的牛血清白蛋白(BSA)和14000U/mL-28000U/mL的糖苷酶(PNGase F),本发明涉及临床医学病理检测技术领域。该应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法,相比较一般免疫组织化学的封闭液,本发明通过向封闭液加入了糖苷酶(PNGase F),从而使该封闭液能将蛋白质的N-连接糖基被切去,暴露抗原决定簇,进而增强最终的显色信号,针对含有N-连接糖基化修饰位点的抗原,本发明的封闭液的效果更好,大大增强了此类抗原在免疫组织化学检测中的显色信号,封闭液配制简单,成本低,且不会额外增加免疫组织化学的检测步骤。



1. 一种应用于免疫组织化学的封闭液,其特征在于:所述封闭液包含如下按重量份计组分:1000mL的1×TBS(Tris盐酸缓冲液)、20-60g的牛血清白蛋白(BSA)和14000U/mL-28000U/mL糖苷酶(PNGase F)。

2. 根据权利要求1所述的一种应用于免疫组织化学的封闭液,其特征在于:所述1×TBS(Tris盐酸缓冲液)的pH为8.0。

3. 根据权利要求1所述的一种应用于免疫组织化学的封闭液,其特征在于:其制备方法具体包括如下步骤:

S1、首先量取100mL,pH为8.0的1×TBS(Tris-base 缓冲液)于烧杯中;

S2、然后称取配方量的牛血清白蛋白(BSA)加入至上述溶液中,搅拌使其完全溶解;

S3、之后加入配方量的糖苷酶(PNGase F)至步骤S2得到的溶液中,搅拌使其完全溶解,从而制得该应用于免疫组织化学的封闭液。

4. 一种应用于免疫组织化学的封闭液的使用方法,其特征在于:包括石蜡组织切片的脱蜡处理、抗原修复和免疫组化染色,所述石蜡组织切片脱蜡处理方法具体包括以下步骤:

T1、将组织切片插入切片架,在二甲苯(I)和二甲苯(II)中各浸泡20min;

T2、然后分别在无水乙醇(I)、无水乙醇(II)、95%乙醇、80%乙醇和60%乙醇中各浸泡5min;

T3、之后在去离子水中浸泡洗涤三次,每次1min,最后转入pH为8.0的TBS缓冲液中待用;

所述抗原修复的方法具体步骤为:取约500ml的Tris-EDTA修复液于修复容器中,此时要保证修复液能没过组织切片,再用微波炉预加热修复液至沸腾,然后将切片放入其中,持续加热修复液15min,温度维持在90-100℃,持续加热结束后,自然冷却30-40min至室温;

所述免疫组化染色的方法具体包括以下步骤:

E1、用缓冲液浸泡洗涤冷却后的组织切片三次,每次1min,然后转入pH为8.0的TBS缓冲液中待用;

E2、将步骤E1中的组织切片取出,用吸水纸擦净多余液体,在组织切片上滴加适量3%的H₂O₂水溶液,室温下,于孵育湿盒中孵育灭活 10min;

E3、使用pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,然后用吸水纸擦净多余液体,滴加适量本发明所述封闭液,37℃下于孵育湿盒中孵育30min;

E4、用吸水纸擦净多余液体,滴加适量一抗试剂,室温下于湿盒中孵育1.5h;

E5、pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,滴加适量HRP标记的羊抗鼠二抗试剂,室温下于湿盒孵育30min;

E6、pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,滴加适量配制好的DAB显色液,反应1-5min后及时用去离子水冲洗干净多余DAB显色液,将组织切片至于8.0的TBS缓冲液待用;

E7、吸水纸擦净多余液体,滴加适量苏木素染色液,染色2min,pH8.0的TBS缓冲液冲洗干净,转入切片架至于pH8.0的TBS缓冲液浸泡反蓝5min;

E8、去离子水液浸泡洗涤三次,依次放入60%乙醇、80%乙醇、95%乙醇、无水乙醇(III)、无水乙醇(IV)、二甲苯(III)和二甲苯(IV)中各浸泡5min,最后取出至于通风橱风干5min;

E9、中性树胶封片,显微镜下观察染色结果。

5. 根据权利要求4所述的一种应用于免疫组织化学的封闭液的使用方法,其特征在于:其使用方法为使用本发明所述封闭液替换常规封闭液使用。

6. 根据权利要求4所述的一种应用于免疫组织化学的封闭液的使用方法,其特征在于:所述封闭液现配现用时效果最佳,亦可在4℃冷藏条件下保存至少两周。

7. 根据权利要求4所述的一种应用于免疫组织化学的封闭液的使用方法,其特征在于:所述封闭液在使用时,封闭时间为15min-24h,封闭温度为4-40℃。

8. 根据权利要求4所述的一种应用于免疫组织化学的封闭液的使用方法,其特征在于:所述封闭液在使用时,最佳封闭条件为:37℃封闭30min。

一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及临床医学病理检测技术领域,具体为一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法。

背景技术

[0002] 免疫组织化学是对目标抗原进行定性、定位、定量测定的一项检测技术。免疫组织化学把免疫反应的特异性和组织化学的可见性巧妙地结合起来,借助普通显微镜、电子显微镜等显微镜的成像和放大作用,在组织、细胞、亚细胞水平检测各种抗原物质,如蛋白质、多肽、酶、激素、病原体以及受体等。

[0003] 在免疫组织化学反应中,抗体能够识别抗原决定簇,然后与之特异性结合。免疫组织化学检测过程中封闭液的作用原理主要是通过封闭液中的蛋白质(如牛血清白蛋白,酪蛋白等)非特异性地与组织切片表面的非特异性的抗原决定簇结合,导致特异性的抗体不能跟这些非特异性的抗原决定簇结合,从而降低显色的背景信号。而目标抗原决定簇与抗体结合非常特异,结合能力很强,封闭之后依然能够结合。但如果封闭液封闭时间太长或蛋白浓度过高,也会影响抗体的特异性结合,导致最后显色信号变弱。免疫组织化学常用的封闭液有动物血清、脱脂奶粉、酪蛋白等。

[0004] 另外,一些抗原如PD-L1、B7-H3、CD7、D22、CD31、CD133等具有较多的糖基化修饰,糖链会使其抗原决定簇被遮蔽,从而导致特异性抗体对该抗原决定簇的识别能力减弱或者无法识别,致使难以准确反映该靶标在该组织或细胞中的表达情况。用糖苷酶(PNGase F)处理以后,N-连接糖链被切去,抗原决定簇被暴露,特异性抗体即可识别并结合相应的抗原决定簇,从而增加该抗体对组织或细胞中该靶标检测的灵敏度和准确性。

[0005] 本发明的封闭液中添加的糖苷酶(PNGase F),对含N-连接糖基化修饰的抗原有很好的去糖基化效果,可显著增加显色的信号强度,且本封闭液不额外增加免疫组织化学检测的操作步骤,封闭液配制方法简单,成本低,且能在4℃条件下至少可保存两周。

发明内容

[0006] (一)解决的技术问题

针对现有技术的不足,本发明提供了一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法,解决了现有的封闭液具有较多的糖基化修饰,糖链会使其抗原决定簇被遮蔽,从而导致特异性抗体对该抗原决定簇的识别能力减弱或者无法识别,致使难以准确反映该靶标在该组织或细胞中表达情况的问题。

[0007] (二)技术方案

为实现以上目的,本发明通过以下技术方案予以实现:一种应用于免疫组织化学的封闭液,所述封闭液包含如下按重量份计组分:1000mL的1×TBS(Tris盐酸缓冲液)、20-60g的牛血清白蛋白(BSA)和14000U/mL-28000U/mL的糖苷酶(PNGase F)。

[0008] 优选的,所述1×TBS(Tris盐酸缓冲液)的pH为8.0。

[0009] 优选的,所述封闭液包含糖苷酶(PNGase F)酶的活力浓度至少为14000U/mL。

[0010] 优选的,其制备方法具体包括如下步骤:

S1、首先量取100mL,pH为8.0的1×TBS(Tris-base 缓冲液)于烧杯中;

S2、然后称取配方量的牛血清白蛋白(BSA)加入至上述溶液中,搅拌使其完全溶解;

S3、之后加入配方量的糖苷酶(PNGase F)至步骤S2得到的溶液中,搅拌使其完全溶解,从而制得该应用于免疫组织化学的封闭液。

[0011] 本发明还公开了一种应用于免疫组织化学的封闭液的使用方法,包括石蜡组织切片的脱蜡处理、抗原修复和免疫组化染色,所述石蜡组织切片脱蜡处理方法具体包括以下步骤:

T1、将组织切片插入切片架,在二甲苯(I)和二甲苯(II)中各浸泡20min;

T2、然后分别在无水乙醇(I)、无水乙醇(II)、95%乙醇、80%乙醇和60%乙醇中各浸泡5min;

T3、之后在去离子水中浸泡洗涤三次,每次1min,最后转入pH为8.0的TBS缓冲液中待用;

所述抗原修复的方法具体步骤为:取约500ml的Tris-EDTA修复液于修复容器中,此时要保证修复液能没过组织切片,再用微波炉预加热修复液至沸腾,然后将切片放入其中,持续加热修复液15min,温度维持在90-100℃,持续加热结束后,自然冷却30-40min至室温;

所述免疫组化染色的方法具体包括以下步骤:

E1、用缓冲液浸泡洗涤冷却后的组织切片三次,每次1min,然后转入pH为8.0的TBS缓冲液中待用;

E2、将步骤E1中的组织切片取出,用吸水纸擦净多余液体,在组织切片上滴加适量3%的H₂O₂水溶液,室温下,于孵育湿盒中孵育灭活 10min;

E3、使用pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,然后用吸水纸擦净多余液体,滴加适量本发明所述封闭液,37℃下于孵育湿盒中孵育30min;

E4、用吸水纸擦净多余液体,滴加适量一抗试剂,室温下于湿盒中孵育1.5h;

E5、pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,滴加适量HRP标记的羊抗鼠二抗试剂,室温下于湿盒孵育30min;

E6、pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,滴加适量配制好的DAB显色液,反应1-5min后及时用去离子水冲洗干净多余DAB显色液,将组织切片至于pH8.0的TBS缓冲液待用;

E7、吸水纸擦净多余液体,滴加适量苏木素染色液,染色2min,pH8.0的TBS缓冲液冲洗干净,转入切片架至于pH8.0的TBS缓冲液浸泡反蓝5min;

E8、去离子水液浸泡洗涤三次,依次放入60%乙醇、80%乙醇、95%乙醇、无水乙醇(III)、无水乙醇(IV)、二甲苯(III)和二甲苯(IV)中各浸泡5min,最后取出至于通风橱风干5min;

E9、中性树胶封片,显微镜下观察染色结果。

[0012] 优选的,其使用方法为使用本发明所述封闭液替换常规封闭液使用。

[0013] 优选的,所述封闭液现配现用时效果最佳,亦可在4℃冷藏条件下保存至少两周。

[0014] 优选的,所述封闭液在使用时,封闭时间为15min-24h,封闭温度为4-40℃。

[0015] 优选的,所述封闭液在使用时,最佳封闭条件为:37℃封闭30min。

[0016] 经过试验分析得出,封闭液的配方中糖苷酶(PNGase F)的浓度在14000-28000U/mL时,封闭效果最优,当糖苷酶(PNGase F)浓度低于14000U/mL时,酶切效果不显著且无法通过延长酶切时间到达较好的酶切效果,最终的着色效果较差,当糖苷酶(PNGase F)的浓度高于28000U/mL时,最终的着色无明显增强,且糖苷酶(PNGase F)的用量较为浪费,而封闭的时间在15分钟-24小时时,酶切效果最好,亦能保证封闭效果;当封闭温度为4℃-40℃时,对糖基化基团的酶切效果最好,且不影响封闭效果。

[0017] (三)有益效果

本发明提供了一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法。与现有技术相比具备以下有益效果:

(1)、该应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法,相比较一般免疫组织化学的封闭液,本发明通过向封闭液加入了糖苷酶(PNGase F),从而使该封闭液能将蛋白质的N-连接糖基被切去,暴露抗原决定簇,进而增强最终的显色信号。

[0018] (2)、该应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法,针对含有N-连接糖基化修饰位点的抗原,本发明的封闭液的效果更好,大大增强了此类抗原在免疫组织化学检测中的显色信号。

[0019] (3)、该应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法,封闭液配制简单,成本低,且不会额外增加免疫组织化学的检测步骤。

附图说明

[0020] 图1为本发明效果实施例1染色结果中慢性扁桃体炎实验组染色图;

图2为本发明效果实施例1染色结果中慢性扁桃体炎对照组染色图;

图3为本发明效果实施例2染色结果中胎盘实验组染色图;

图4为本发明效果实施例2染色结果中胎盘对照组染色图;

图5为本发明效果实施例2染色结果中乳腺癌实验组染色图;

图6为本发明效果实施例2染色结果中乳腺癌对照组染色图。

具体实施方式

[0021] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0022] 请参阅图1-6,本发明实施例提供两种技术方案:一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法,下述实施例采用的试剂规格及纯度如下:

pH为8.0的1×TBS(Tris盐酸缓冲液)所含各组分:

氯化钠(NaCl),分析纯,货号10019318,国药集团化学试剂有限公司。

[0023] 三羟甲基氨基甲烷(Tris-base),超纯,货号3077C308-5KG,VWR International, LLC。

[0024] 盐酸,分析纯,货号10011018,国药集团化学试剂有限公司。

[0025] 双蒸水(ddH₂O),双蒸水,本公司自制备。

[0026] 牛血清白蛋白(BSA),货号1257c319,Amresco product。

[0027] 糖苷酶(PNGase F),1,800,000U/mg,0.4mg/mL,货号ATE00005(原货号ATA808),普健生物(武汉)科技有限公司(AtaGenix)。

[0028] 一种应用于免疫组织化学的封闭液的制备方法,具体包括以下实施例:

实施例1

量取100mL, pH为8.0的1×TBS(Tris-base 缓冲液)于烧杯中;称取3g牛血清白蛋白(BSA)加入至上述溶液中,搅拌使其完全溶解;加入1.95mL糖苷酶(PNGase F)至上述溶液中,搅拌使其完全溶解。4℃暂存待用。

[0029] 实施例2

量取100mL, pH为8.0的1×TBS(Tris-base 缓冲液)于烧杯中;称取3g牛血清白蛋白(BSA)加入至上述溶液中,搅拌使其完全溶解;加入3.89mL糖苷酶(PNGase F)至上述溶液中,搅拌使其完全溶解。4℃暂存待用。

[0030] 一种应用于免疫组织化学的封闭液的使用方法,具体包括以下实施例:

效果实施例1

按照实施例1配制封闭液完成后,按照本发明标准实验流程分别对两张来源相同的慢性扁桃体炎组织切片进行免疫组织化学PD-L1染色,一张为实验组,使用本发明的封闭液进行封闭;一张为对照组,对照组所使用的封闭液不含糖苷酶(PNGase F),其他组分与实验组完全一致。

[0031] 具体步骤如下:

石蜡组织切片脱蜡处理方法,具体包括以下步骤:

T1、将组织切片插入切片架,在二甲苯(I)和二甲苯(II)中各浸泡20min。

[0032] T2、在无水乙醇(I)、无水乙醇(II)、95%乙醇、80%乙醇、60%乙醇依次各浸泡5min。

[0033] T3、在去离子水中浸泡洗涤三次,每次1min,最后转入pH为8.0的TBS缓冲液中待用。

[0034] 抗原修复的方法具体步骤为:

取约500ml的Tris-EDTA修复液于修复容器中,要保证修复液能没过组织切片,用微波炉预加热修复液至沸腾,然后将切片放入其中,持续加热修复液15min,温度维持在95℃,持续加热结束后,自然冷却至室温,通常情况下30-40min后降至室温。

[0035] 免疫组化染色的方法,具体包括以下步骤:

E1、用pH为8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤冷却后的组织切片三次,每次1min,后转入pH为8.0的TBS缓冲液中待用。

[0036] E2、将步骤E1中的组织切片取出,用吸水纸擦净多余液体,在组织切片上滴加适量3%的H₂O₂水溶液,室温下,于孵育湿盒中孵育灭活 10min。

[0037] E3、使用pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,然后用吸水纸擦净多余液体,滴加适量本发明封闭液,37℃下于孵育湿盒中孵育30min。

[0038] E4、用吸水纸擦净多余液体,滴加适量PD-L1一抗试剂,室温下于湿盒中孵育1.5h。

[0039] E5、pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,滴加适量HRP标记的羊抗鼠二抗试剂,室温下于湿盒孵育30min。

[0040] E6、pH8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液

体,滴加适量配制好的DAB显色液,反应1-5min后及时用去离子水冲洗干净多余DAB显色液,将组织切片至于pH8.0的TBS缓冲液待用。

[0041] E7、吸水纸擦净多余液体,滴加适量苏木素染色液,染色2min,pH8.0的TBS缓冲液冲洗干净,转入切片架至于pH8.0的TBS缓冲液浸泡反蓝5min。

[0042] E8、去离子水液浸泡洗涤三次,依次放入60%乙醇、80%乙醇、95%乙醇、无水乙醇(Ⅲ)、无水乙醇(Ⅳ)、二甲苯(Ⅲ)和二甲苯(Ⅳ)中各浸泡5min,最后取出至于通风橱风干5min。

[0043] E7、中性树胶封片,显微镜下观察染色结果。

[0044] 实验结果解释如下:

通过对比实验组和对照组图片,明显可见使用本发明的封闭液,显色后目标位置着色更深,阳性结果明显。能更准确地判断组织切片中PD-L1的表达情况。

[0045] 效果实施例2

按照实施例2配制封闭液完成后,按照本发明标准实验流程分别对两张来源相同的胎盘组织切片和两张来源相同的乳腺癌组织切片进行免疫组织化学PD-L1染色。两种不同的组织切片中均为一张为实验组,使用本发明的封闭液进行封闭;另一张为对照组,对照组所使用的封闭液不含糖苷酶(PNGase F),其他组分与实验组完全一致。

[0046] 具体步骤如下:

石蜡组织切片脱蜡处理方法,具体包括以下步骤:

T1、将组织切片插入切片架,在二甲苯(I)和二甲苯(Ⅱ)中各浸泡20min。

[0047] T2、在无水乙醇(I)、无水乙醇(Ⅱ)、95%乙醇、80%乙醇、60%乙醇依次各浸泡5min。

[0048] T3、在去离子水中浸泡洗涤三次,每次1min,最后转入pH为8.0的TBS缓冲液中待用。

[0049] 抗原修复的方法具体步骤为:

取约500ml的Tris-EDTA修复液于修复容器中,要保证修复液能没过组织切片,用微波炉预加热修复液至沸腾,然后将切片放入其中,持续加热修复液15min,温度维持在95℃,持续加热结束后,自然冷却至室温,通常情况下30-40min后降至室温。

[0050] 免疫组化染色的方法,具体包括以下步骤:

E1、用pH为8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤冷却后的组织切片三次,每次1min,后转入用pH为8.0的TBS缓冲液中待用。

[0051] E2、将组织切片取出,用吸水纸擦净多余液体,在组织切片上滴加适量过3%H₂O₂水溶液,室温下,于孵育湿盒中孵育灭活10min。

[0052] E3、pH为8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,实验组滴加适量本发明封闭液,对照组滴加相同量的对照组封闭液,37℃下于孵育湿盒中孵育30min。

[0053] E4、用吸水纸擦净多余液体,滴加适量PD-L1一抗试剂,室温下于湿盒中孵育1.5h。

[0054] E5、pH为8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,滴加适量HRP标记的羊抗鼠二抗试剂,室温下于湿盒孵育30min。

[0055] E6、pH为8.0的TBS缓冲液浸泡洗涤组织切片三次,每次1min,用吸水纸擦净多余液体,滴加适量配制好的DAB显色液,反应1-5min后及时用去离子水冲洗干净多余DAB显色液,

将组织切片至于pH为8.0的TBS缓冲液待用。

[0056] E7、吸水纸擦净多余液体,滴加适量苏木素染色液,染色2min,pH为8.0的TBS缓冲液冲洗干净,转入切片架至于pH为8.0的TBS缓冲液浸泡反蓝5min。

[0057] E8、去离子水液浸泡洗涤三次,依次放入60%乙醇、80%乙醇、95%乙醇、无水乙醇(Ⅲ)、无水乙醇(Ⅳ)、二甲苯(Ⅲ)、二甲苯(Ⅳ)中各浸泡 5 min,最后取出至于通风橱风干5min。

[0058] E9、中性树胶封片,显微镜下观察染色结果。

[0059] 实验结果解释如下:

通过对比胎盘组织切片的实验组和对照组以及乳腺癌组织切片的实验组和对照组,明显可见使用本发明封闭液可使组织切片染色后有更强的着色信号,通过上述对比,使用本发明的封闭液能更准确地判断组织切片中PD-L1的表达情况。

[0060] 需要说明的是,在本文中,诸如第一和第二等之类的关系术语仅仅用来将一个实体或者操作与另一个实体或操作区分开来,而不一定要求或者暗示这些实体或操作之间存在任何这种实际的关系或者顺序。而且,术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含,从而使得包括一系列要素的过程、方法、物品或者设备不仅包括那些要素,而且还包括没有明确列出的其他要素,或者是还包括为这种过程、方法、物品或者设备所固有的要素。

[0061] 尽管已经示出和描述了本发明的实施例,对于本领域的普通技术人员而言,可以理解在不脱离本发明的原理和精神的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变型,本发明的范围由所附权利要求及其等同物限定。

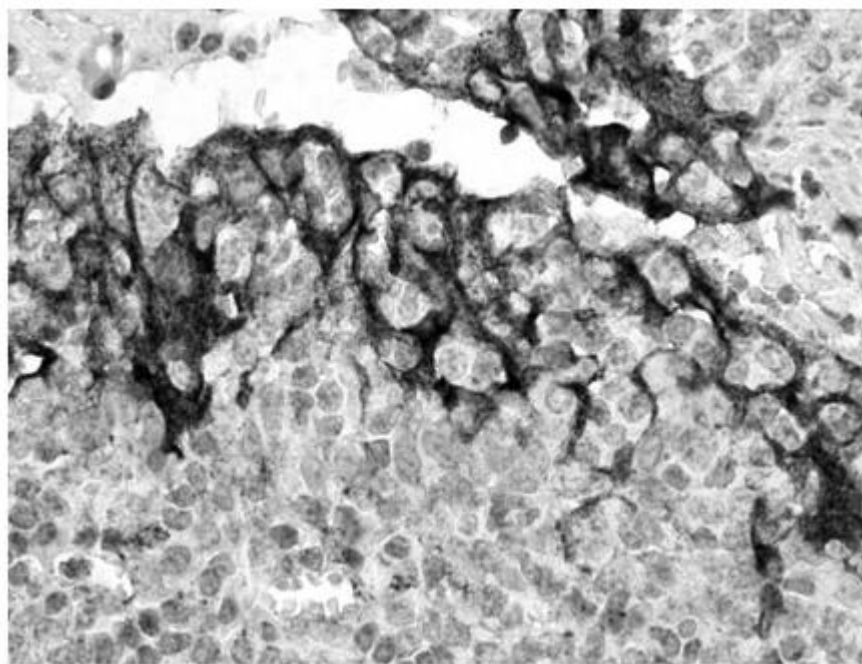


图1

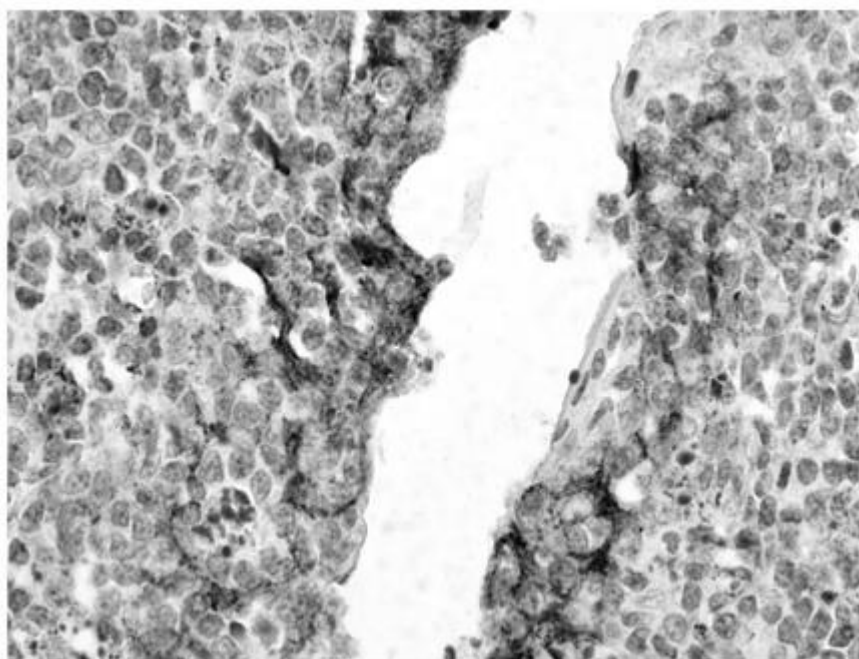


图2

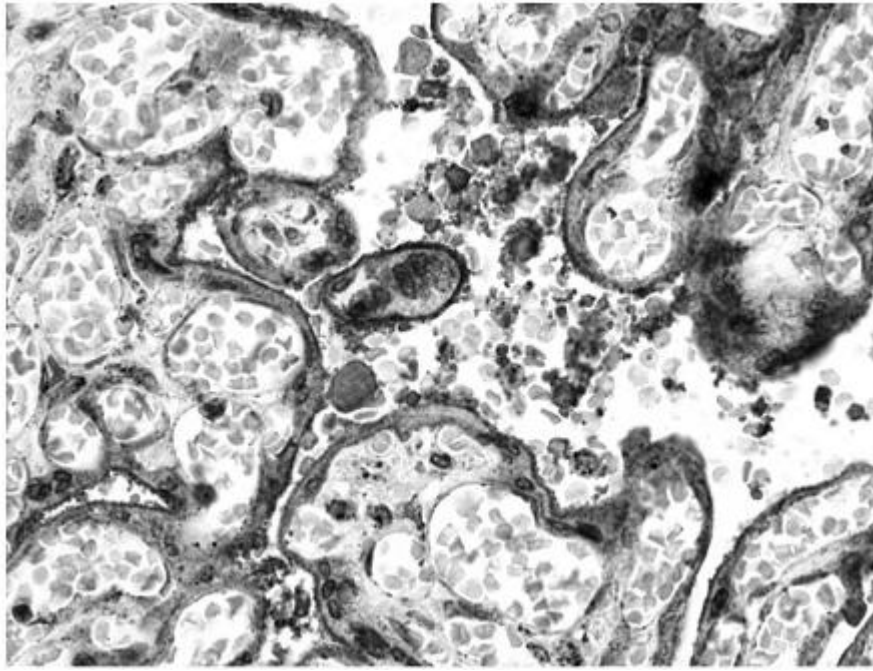


图3

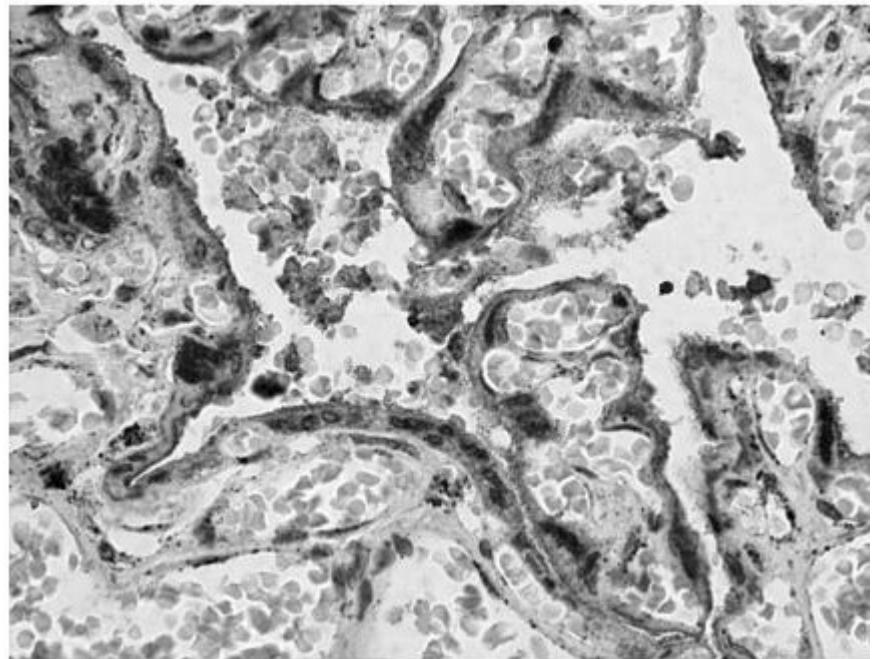


图4

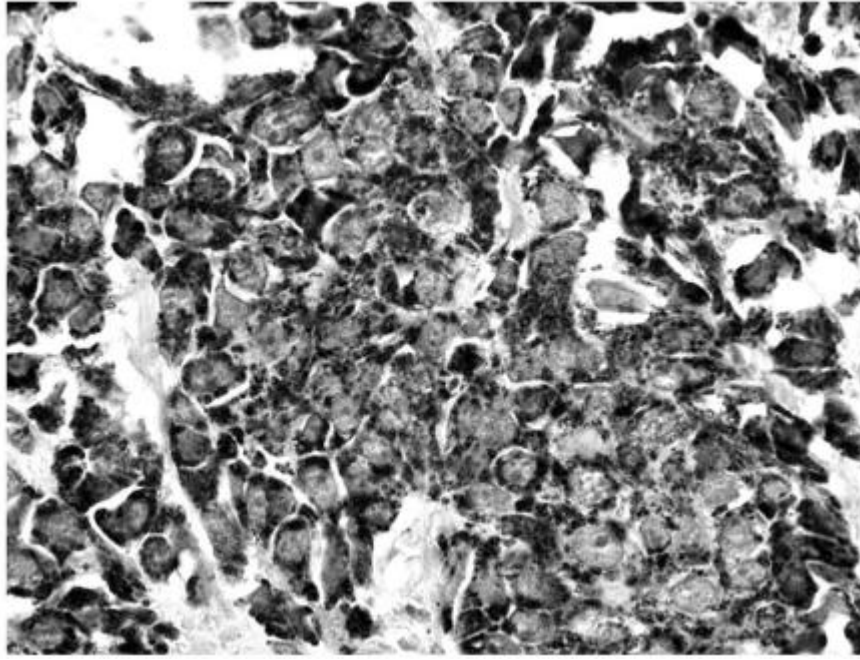


图5

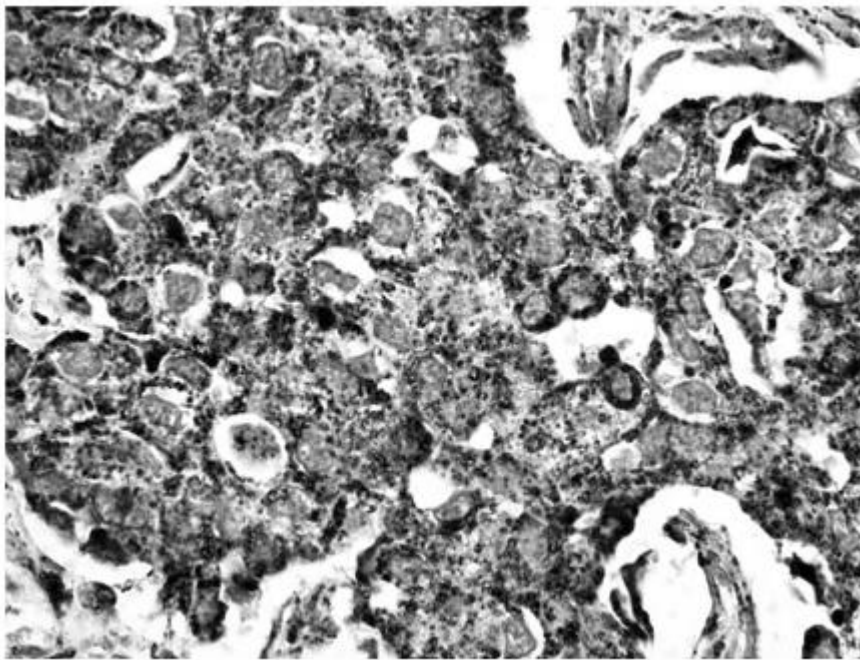


图6

专利名称(译)	一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法		
公开(公告)号	CN111006928A	公开(公告)日	2020-04-14
申请号	CN201911364741.7	申请日	2019-12-26
[标]申请(专利权)人(译)	武汉三鹰生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	武汉三鹰生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	武汉三鹰生物技术有限公司		
[标]发明人	张蜜 胡丽萍 赵应斌		
发明人	张蜜 胡丽萍 赵应斌		
IPC分类号	G01N1/30 G01N33/53 G01N33/531		
CPC分类号	G01N1/30 G01N33/53 G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法，所述封闭液包含如下按重量份计组分：1000mL的1×TBS（Tris盐酸缓冲液）、20-60g的牛血清白蛋白（BSA）和14000U/mL-28000U/mL的糖苷酶（PNGase F），本发明涉及临床医学病理检测技术领域。该应用于免疫组织化学的封闭液及其使用方法，相比较一般免疫组织化学的封闭液，本发明通过向封闭液加入了糖苷酶（PNGase F），从而使该封闭液能将蛋白质的N-连接糖基被切去，暴露抗原决定簇，进而增强最终的显色信号，针对含有N-连接糖基化修饰位点的抗原，本发明的封闭液的效果更好，大大增强了此类抗原在免疫组织化学检测中的显色信号，封闭液配制简单，成本低，且不会额外增加免疫组织化学的检测步骤。

