



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106018781 B

(45)授权公告日 2018.11.13

(21)申请号 201610334537.0

审查员 肖吉

(22)申请日 2016.05.19

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106018781 A

(43)申请公布日 2016.10.12

(73)专利权人 四川金域医学检验中心有限公司

地址 610000 四川省成都市成华区龙潭工

业总部基地成济路1号

(72)发明人 欧阳小峰 刘叶 谷和林 李军秀

(74)专利代理机构 成都行之专利代理事务所

(普通合伙) 51220

代理人 宋辉

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种组织切片的免疫组化操作方法

(57)摘要

本发明公开了一种组织切片的免疫组化操作方法,包括以下步骤:1)封闭内源性过氧化氢酶:采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟;2)染色:采用苏木素染色2分钟;3)滴加I抗:滴加I抗50ul,室温静置40分钟-1小时;4)滴加II抗:滴加II抗40—50ul,室温下静置或37℃1小时。本发明所采用的技术方案改变了常规操作步骤为在滴加I抗、II抗之前采用苏木素染色,利于滴加I抗、II抗后抗体显色。本发明操作步骤简单,仅对现有操作步骤的操作顺序及采用的试剂、操作的时间进行改变,即可实现现有操作效果的改变,染色后滴入抗体,便于把握组织的大小和位置。

1. 一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于,包括以下步骤:

1) 封闭内源性过氧化氢酶:采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟;

2) 染色:采用苏木素染色2分钟;

3) 滴加I抗:滴加I抗50u1,室温静置40分钟-1小时;

4) 滴加II抗:滴加II抗40—50u1,室温下静置或37℃1小时;

所述步骤1)在对组织切片进行封闭内源性过氧化氢酶的操作前还包括对组织切片进行切片、捞片、脱蜡、水化操作。

2. 根据权利要求1所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述捞片具体操作方法为将组织切片在60℃下烘烤10—15分钟。

3. 根据权利要求1所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述水化的具体操作方法为:将组织切片置于二甲苯中浸泡8分钟,更换二甲苯后再浸泡8分钟,然后依次在无水乙醇、95%乙醇、70%乙醇中分别浸泡10分钟。

4. 根据权利要求1所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述步骤1)封闭内源性过氧化氢酶操作中,采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟,然后依次采用蒸馏水清洗6分钟,PBS漂洗6分钟。

5. 根据权利要求1所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述步骤4)中所加入的II抗为生物素化II抗。

6. 根据权利要求1所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述步骤4)滴加II抗后还包括滴加III抗,滴加温度为37℃,滴入后静置40分钟。

7. 根据权利要求6所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述步骤4)滴加II抗与滴加III抗的操作步骤之间还包括采用PBS缓冲液对组织切片冲洗,共清洗3次,每次4分钟。

8. 根据权利要求7所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述的组织切片滴加III抗后还包括采用DAB显色剂显色操作步骤。

9. 根据权利要求8所述的一种组织切片的免疫组化操作方法,其特征在于:所述DAB显色剂的浓度为25mg/ml,其由250mgDAB和10mlPBS配制而成。

一种组织切片的免疫组化操作方法

技术领域

[0001] 本发明涉及实验室检验分析方法,具体涉及一种组织切片的免疫组化操作方法。

背景技术

[0002] 免疫组化是应用免疫学抗原抗体反应原理,即抗原与抗体特异性反应原理,通过化学反应使标记抗体的显色剂如荧光素、酶、金属离子、同位素等显色来确定反应组织细胞内抗原,对其进行定位、定性及定量的研究。

[0003] 而对于免疫组化操作,实验人员在操作过程中经常遇到组织切片修复处理后没有颜色,在进行滴加I抗、II抗时,不知道具体滴加的位置和组织,只能采取大面积滴加,从而导致滴加的结果不准确,不能对组织细胞内的抗原进行定位,也无法开展后续的定性、定量研究操作。

[0004] 因此,一个免疫组化实验要经过多次操作,并且对整个实验操作可能影响实验结构的环节进行一一排除,工作量大,极大的降低了工作效率。

[0005] 基于此,实验室研发人员在多次问题的实践操作中设计了一种组织切片的免疫组化操作方法。

发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是:操作人员采用现有组织切片的操作方法,在滴加抗体时无法把握滴加的位置。现提供一种组织切片的免疫组化操作方法,通过调整现有操作方法的操作步骤,解决了免疫组化操作滴加抗体时,工作效率低,滴加结果不准确等技术问题。

[0007] 本发明的通过下述技术方案实现:

[0008] 一种组织切片的免疫组化操作方法,包括以下操作步骤:。

[0009] 1) 封闭内源性过氧化氢酶:采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟;

[0010] 2) 染色:采用苏木素染色2分钟;

[0011] 3) 滴加I抗:滴加I抗50u1,室温静置40分钟-1小时;

[0012] 4) 滴加II抗:滴加II抗40—50u1,室温下静置或37℃下静置1小时。

[0013] 现有实验室进行免疫组化操作方法的步骤一般包括切片、捞片、脱蜡、修复、内源性酶阻断、滴I抗、滴II抗、显色、复染、封片,而采用该操作方法滴加抗体,结果组织切片几乎透明,难以肉眼观察,且很难把握滴加抗体时的的位置和抗体的量,需要使用更多的试剂,同时导致整个操作过程的结构不准确。

[0014] 发明人针对现有的操作方法进行反复试验操作,发现采用本发明技术方案,改变操作步骤在内源性酶阻断操作与滴加I抗、II抗之间增加染色操作步骤,可消除内源性酶的活性,同时便于后续滴加I抗、II抗后抗体显色,从而确定组织细胞内抗原,对抗原进行定位、定性及定量研究。

[0015] 进一步地,步骤1) 在对组织切片进行封闭内源性过氧化氢酶的操作前还包括对组

织切片进行切片、捞片、脱蜡、水化操作。所述切片、捞片、脱蜡、水化操作步骤均为对组织切片进行封闭内源性过氧化氢酶操作前需进行的操作。

[0016] 进一步地,所述捞片具体操作方法为将组织切片在60℃下烘烤10—15分钟。

[0017] 进一步地,所述水化的具体操作方法为:将组织切片置于二甲苯中浸泡8分钟,更换二甲苯后再浸泡8分钟,然后依次在无水乙醇、95%乙醇、70%乙醇中分别浸泡10分钟。

[0018] 进一步地,所述步骤1) 封闭内源性过氧化氢酶操作中,对组织切片依次采用蒸馏水清洗6分钟,PBS漂洗6分钟。

[0019] 进一步地,所述步骤4) 中所加入的II抗为生物素化II抗,在37℃下静置40分钟。进一步地,所述步骤7) 加入II抗后用PBS漂洗6分钟。

[0020] 进一步地,所述步骤4) 中所加入的II抗为生物素化II抗,在37℃下静置40分钟。

[0021] 进一步地,所述步骤4) 滴加II抗后还包括滴加III抗,滴加温度为37℃,滴入后静置40分钟。

[0022] 进一步地,所述步骤4) 滴加II抗与滴加III抗的操作步骤之间还包括采用PBS缓冲液对组织切片冲洗,共清洗3次,每次4分钟。

[0023] 进一步地,所述的组织切片滴加III抗后还包括采用DAB显色剂显色操作步骤。

[0024] 进一步地,所述DAB显色剂的浓度为25mg/ml,其由250mgDAB和10mlPBS配制而成。

[0025] 本发明与现有技术相比,具有如下的优点和有益效果:

[0026] (1) 本发明所采用的技术方案改变了常规操作步骤在滴加I抗、II抗之前采用苏木素染色,利于滴加I抗、II抗后抗体显色。

[0027] (2) 本发明操作步骤简单,仅对现有操作步骤的操作顺序及采用的试剂、操作的时间进行改变,即可实现现有操作效果的改变,染色后滴入抗体,便于把握组织的大小和位置。

[0028] (3) 本发明方法简单,操作方便,且能有效的解决实验检验分析中一些技术细节问题,利于实验规范操作,具有较强的实际应用价值,且能够避免实验试剂的浪费,也尽量减少了实验中的一些误差。

具体实施方式

[0029] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明白,下面结合实施例,对本发明作进一步的详细说明,本发明的示意性实施方式及其说明仅用于解释本发明,并不作为对本发明的限定。

[0030] 实施例1:

[0031] 一种组织切片的免疫组化操作方法,包括以下操作步骤:1) 封闭内源性过氧化氢酶:采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟;

[0032] 2) 染色:采用苏木素染色2分钟;

[0033] 3) 滴加I抗:滴加I抗50ul,室温静置40分钟;

[0034] 4) 滴加II抗:滴加II抗40—50ul,室温下静置。

[0035] 本实施例中所未涉及的对组织切片的切片、捞片、脱蜡、水化、抗原修复、显色、封片等其他常规实验操作步骤内容为本领域的公知常识,不再赘述。

[0036] 实施例2:

[0037] 一种组织切片的免疫组化操作方法,包括以下操作步骤:1)切片、捞片:将组织切片在60℃下烘烤20min;

[0038] 2)脱蜡和水化:将组织切片置于二甲苯中浸泡10分钟,更换二甲苯后再浸泡10分钟,然后依次在无水乙醇、95%乙醇、70%乙醇中分别浸泡5分钟;

[0039] 3)封闭内源性过氧化氢酶:采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟,然后依次采用蒸馏水清洗6分钟,PBS漂洗6分钟;

[0040] 4)染色:采用苏木素染色2分钟后用盐酸酒精分化;

[0041] 5)滴加I抗:滴加I抗50ul,室温静置1小时或4℃过夜或37℃1小时;

[0042] 6)滴加II抗:滴加II抗50ul,37℃1小时;

[0043] 7)滴加III抗,滴加温度为37℃,滴入后静置40分钟。

[0044] 实施例3:

[0045] 一种组织切片的免疫组化操作方法,包括以下操作步骤:1)切片、捞片:将组织切片在60℃下烘烤20min;

[0046] 2)脱蜡和水化:将组织切片置于二甲苯中浸泡10分钟,更换二甲苯后再浸泡10分钟,然后依次在无水乙醇、95%乙醇、70%乙醇中分别浸泡5分钟;

[0047] 3)封闭内源性过氧化氢酶:采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟,然后依次采用蒸馏水清洗6分钟,PBS漂洗6分钟;

[0048] 4)染色:采用苏木素染色2分钟后用盐酸酒精分化;

[0049] 5)滴加I抗:滴加I抗50ul,室温静置1小时或4℃过夜或37℃1小时;

[0050] 6)滴加II抗:滴加II抗50ul,37℃1小时;

[0051] 7)采用PBS缓冲液对组织切片冲洗,共清洗3次,每次4分钟。

[0052] 8)滴加III抗,滴加温度为37℃,滴入后静置40分钟。

[0053] 实施例4:

[0054] 一种组织切片的免疫组化操作方法,包括以下操作步骤:

[0055] 1)切片、捞片:将组织切片在60℃下烘烤20min;

[0056] 2)脱蜡和水化:将组织切片置于二甲苯中浸泡10分钟,更换二甲苯后再浸泡10分钟,然后依次在无水乙醇、95%乙醇、70%乙醇中分别浸泡5分钟;

[0057] 3)封闭内源性过氧化氢酶:采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟,然后依次采用蒸馏水清洗6分钟,PBS漂洗6分钟;

[0058] 4)染色:采用苏木素染色2分钟后用盐酸酒精分化;

[0059] 5)滴加I抗:滴加I抗50ul,室温静置1小时或4℃过夜或37℃1小时;

[0060] 6)滴加II抗:滴加II抗50ul,37℃1小时;

[0061] 7)采用PBS缓冲液对组织切片冲洗,共清洗3次,每次4分钟。

[0062] 8)滴加III抗,滴加温度为37℃,滴入后静置40分钟;

[0063] 9)显色:采用DAB显色剂,常温下显色。

[0064] 其中DAB显色剂的浓度为25mg/ml。

[0065] 以上所述的具体实施方式,对本发明的目的、技术方案和有益效果进行了进一步详细说明,所应理解的是,以上所述仅为本发明的具体实施方式而已,并不用于限定本发明的保护范围,凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含

在本发明的保护范围之内。

专利名称(译)	一种组织切片的免疫组化操作方法		
公开(公告)号	CN106018781B	公开(公告)日	2018-11-13
申请号	CN201610334537.0	申请日	2016-05-19
[标]申请(专利权)人(译)	四川金域医学检验中心有限公司		
申请(专利权)人(译)	四川金域医学检验中心有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	四川金域医学检验中心有限公司		
[标]发明人	欧阳小峰 刘叶 谷和林 李军秀		
发明人	欧阳小峰 刘叶 谷和林 李军秀		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/5302		
代理人(译)	宋辉		
审查员(译)	肖吉		
其他公开文献	CN106018781A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种组织切片的免疫组化操作方法，包括以下步骤：1)封闭内源性过氧化氢酶：采用0.3%过氧化氢甲醇浸泡30分钟；2)染色：采用苏木素染色2分钟；3)滴加I抗：滴加I抗50ul，室温静置40分钟-1小时；4)滴加II抗：滴加II抗40—50ul，室温下静置或37℃1小时。本发明所采用的技术方案改变了常规操作步骤为在滴加I抗、II抗之前采用苏木素染色，利于滴加I抗、II抗后抗体显色。本发明操作步骤简单，仅对现有操作步骤的操作顺序及采用的试剂、操作的时间进行改变，即可实现现有操作效果的改变，染色后滴入抗体，便于把握组织的大小和位置。