



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107367607 A

(43)申请公布日 2017. 11. 21

(21)申请号 201710380142.9

(22)申请日 2017.05.25

(71)申请人 长沙金域医学检验所有限公司

地址 410000 湖南省长沙市高新开发区麓
天路28号金瑞麓谷科技园D1-D2栋1-8
层101-801号

(72)发明人 姜美容 周梅华 彭靖 黎娅
商亚彤

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书2页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种病理标本切片免疫组化操作方法及其
系统

(57)摘要

本发明公开了一种病理标本切片免疫组化操作方法及其系统,操作方法包括病理标本石蜡切片、病理标本烤片、病理标本切片脱蜡、病理标本切片抗原修复、病理标本切片染色、病理标本切片滴加抗体、病理标本切片显色、病理标本切片复染、病理标本切片封片和镜检等步骤。本发明采用先用苏木素进行染色滴加抗体I、抗体II,利于抗体的显色,且染色后滴入抗体便于把握组织的大小和位置,减小了滴加抗体时对位置把握的偏差,便于实验规范操作,具有较强的实际应用价值,能有效避免实际的浪费,也能很大程度上减小实验数据的误差。

1. 一种病理标本切片免疫组化操作方法,其特征在于,包括以下几个步骤:

(1) 病理标本石蜡切片:取已制好的病理标本石蜡,用石蜡切片机切成2-4 μ m的石蜡切片

(2) 病理标本烤片:55-65℃恒温箱内烤带有病理标本石蜡切片的载玻片2h;

(3) 病理标本切片脱蜡:脱蜡前先将带有病理标本石蜡切片的载玻片在室温中放置60min,后用二甲苯I、二甲苯II、二甲苯III浸泡,每次5min,再将载玻片放置于无水酒精I、无水酒精II、无水酒精III中浸泡,每次2min,再依次移至95%酒精I、95%酒精II、85%酒精中浸泡,每次2min,最后用PBS冲洗2min;

(4) 病理标本切片抗原修复:将冲洗干净后的载玻片放入高压锅中的PH为8.0的抗原修复液中20-25min,自然冷却30min以上,PBS冲洗2-3次,再移至蒸馏水中浸泡2min,3%双氧水中浸泡8min,PBS冲洗2-3次;

(5) 病理标本切片染色:采用苏木素染色2-3min;

(6) 病理标本切片滴加抗体:在载玻片上滴加抗体I,再放入孵育湿盒中,连同孵育湿盒一起放入2-8℃冷藏冰箱中静置8-10h,取出,室温中静置30min,PBS冲洗2-3次,滴加抗体II,再放入孵育湿盒中,连同孵育湿盒一起放入37℃恒温箱中静置40min,取出,室温中静置30min,PBS冲洗2-3次;

(7) 病理标本切片显色:DAB显色3-5min,在显微镜下控制染色的强度。

(8) 病理标本切片复染:苏木素染液复染1min,盐酸酒精分化3s,PBS冲洗5-10分钟。

(9) 病理标本切片封片和镜检。

2. 如权利要求1所述的一种病理标本切片免疫组化操作方法,其特征在于,所述步骤(4)中采用的抗原修复液为EDTA抗原修复液,体积为1400-1500ml。

3. 如权利要求1所述的一种病理标本切片免疫组化操作方法,其特征在于,所述步骤(4)中PBS冲洗每次冲洗5min。

4. 如权利要求1所述的一种病理标本切片免疫组化操作方法,其特征在于,所述步骤(5)中采用苏木素然后用盐酸酒精分化。

5. 如权利要求1所述的一种病理标本切片免疫组化操作方法,其特征在于,所述步骤(6)中PBS冲洗每次冲洗3-5min。

6. 如权利要求1所述的一种病理标本切片免疫组化操作方法,其特征在于,所述步骤(7)中显色采用DBA显色液显色,所述DBA显色液显色由DAKO ChemMate EnVision试剂B2ml和DAKO ChemMate EnVision试剂C10 μ l混合而成。

7. 如权利要求1所述的一种病理标本切片免疫组化操作方法,其特征在于,所述步骤(8)中PBS冲洗2-3次。

8. 一种病理标本切片免疫组化操作系统,用于实现权利要求1-7任意一项操作方法,其特征在于,所述系统包括:

切片模块:采用石蜡切片机将病理标本石蜡切成薄片;

烤片模块:采用烘烤装置将病理标本石蜡切片烤干;

脱蜡模块:采用脱蜡缸去除病理标本石蜡切片中的石蜡;

抗原修复模块:采用高压锅加热将抗原的暴露和修正;

染色模块:采用苏木素对病理标本石蜡切片进行染色;

滴加抗体模块:采用DAKO画圈笔和滴管对病理标本石蜡切片滴加抗体;

显色模块:采用滴管对病理标本石蜡切片进行显色;

封片镜检模块:用于对病理标本石蜡切片进行封片和镜检。

9.如权利要求8所述的一种病理标本切片免疫组化操作系统,其特征在于,在所述显色模块与所述封片镜检模块之间还设有复染模块。

一种病理标本切片免疫组化操作方法及其系统

技术领域

[0001] 本发明属于实验室检测分析方法的技术领域,尤其涉及一种病理标本切片免疫组化操作方法及其系统。

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。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新型组织切片的免疫组化操作方法。

发明内容

[0005] 本发明解决了现有技术中的操作人员进行免疫组化实验时在滴加抗体时位置把握不准确,工作效率低,溶剂浪费大,实验数据不准确等问题。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种病理标本切片免疫组化操作方法,包括以下几个步骤:

[0007] (1) 病理标本石蜡切片:取已制好的病理标本石蜡,用石蜡切片机切成2-4 μ m的石蜡切片;

[0008] (2) 病理标本烤片:55-65℃恒温箱内烤带有病理标本石蜡切片的载玻片2h;

[0009] (3) 病理标本切片脱蜡:脱蜡前先将带有病理标本石蜡切片的载玻片在室温中放置60min,后用二甲苯I、二甲苯II、二甲苯III浸泡,每次5min,再将载玻片放置于无水酒精I、无水酒精II、无水酒精III中浸泡,每次2min,再依次移至95%酒精I、95%酒精II、85%酒精中浸泡,每次2min,最后用PBS冲洗2min;

[0010] (4) 病理标本切片抗原修复:将冲洗干净后的载玻片放入高压锅中的PH为8.0的抗原修复液中20-25min,自然冷却30min以上,PBS冲洗2-3次,再移至蒸馏水中浸泡2min,3%双氧水中浸泡8min,PBS冲洗2-3次;

[0011] (5) 病理标本切片染色:采用苏木素染色2-3min;

[0012] (6) 病理标本切片滴加抗体:在载玻片上滴加抗体I,再放入孵育湿盒中,连同孵育湿盒一起放入2-8℃冷藏冰箱中静置8-10h,取出,室温中静置30min,PBS冲洗2-3次,滴加抗体II,再放入孵育湿盒中,连同孵育湿盒一起放入37.2℃恒温箱中静置40min,取出,室温中静置30min,PBS冲洗2-3次;

- [0013] (7) 病理标本切片显色: DAB显色3-5min, 在显微镜下控制染色的强度。
- [0014] (8) 病理标本切片复染: 苏木素染液复染1min, 盐酸酒精分化3s, PBS冲洗5-10分钟。
- [0015] (9) 病理标本切片封片和镜检。
- [0016] 优选地, 所述步骤(4)中采用的抗原修复液为EDTA抗原修复液, 体积为1400-1500ml。
- [0017] 优选地, 所述步骤(4)中PBS冲洗每次冲洗5min。
- [0018] 优选地, 所述步骤(5)中采用苏木素然后用盐酸酒精分化。
- [0019] 优选地, 所述步骤(6)中PBS冲洗每次冲洗3-5min。
- [0020] 优选地, 所述步骤(7)中显色采用DBA显色液显色, 所述DBA显色液显色由DAKO ChemMate EnVision试剂B2ml和DAKO ChemMate EnVision试剂C10 μ l混合而成。
- [0021] 优选地, 所述步骤(8)中PBS冲洗2-3次。
- [0022] 一种病理标本切片免疫组化操作系统, 用于实现权利要求1-7任意一项操作方法, 所述系统包括:
- [0023] 切片模块: 采用石蜡切片机将病理标本石蜡切成薄片;
- [0024] 烤片模块: 采用烘烤装置将病理标本石蜡切片烤干;
- [0025] 脱蜡模块: 采用脱蜡缸去除病理标本石蜡切片中的石蜡;
- [0026] 抗原修复模块: 采用高压锅加热将抗原的暴露和修正;
- [0027] 染色模块: 采用苏木素对病理标本石蜡切片进行染色;
- [0028] 滴加抗体模块: 采用DAKO画圈笔和滴管对病理标本石蜡切片滴加抗体;
- [0029] 显色模块: 采用滴管对病理标本石蜡切片进行显色;
- [0030] 封片镜检模块: 用于对病理标本石蜡切片进行封片和镜检。
- [0031] 优选地, 在所述显色模块与所述封片镜检模块之间还设有复染模块。
- [0032] 与现有技术相比, 本发明取得了以下有益效果: 本发明采用先用苏木素进行染色滴加抗体I、抗体II, 利于抗体的显色, 且染色后滴入抗体便于把握组织的大小和位置, 减小了滴加抗体时对位置把握的偏差, 便于实验规范操作, 具有较强的实际应用价值, 能有效避免实际的浪费, 也能很大程度上减小实验数据的误差。

附图说明

- [0033] 此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解, 构成本发明的一部分, 本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明, 并不构成对本发明的不当限定。在附图中:
- [0034] 图1是本发明的系统结构示意图。

具体实施方式

- [0035] 如在说明书及权利要求当中使用了某些词汇来指称特定组件。本领域技术人员应可理解, 硬件制造商可能会用不同名词来称呼同一个组件。本说明书及权利要求并不以名称的差异来作为区分组件的方式, 而是以组件在功能上的差异来作为区分的准则。说明书后续描述为实施本申请的较佳实施方式, 然所述描述乃以说明本申请的一般原则为目的, 并非用以限定本申请的范围。本申请的保护范围当视所附权利要求所界定者为准。

[0036] 以下结合附图对本申请作进一步详细说明,但不作为对本申请的限定。

[0037] 实施例一:

[0038] 一种病理标本切片免疫组化操作方法,包括以下几个步骤:

[0039] (1) 病理标本石蜡切片:取已制好的病理标本石蜡,用石蜡切片机切成3 μ m的石蜡切片;

[0040] (2) 病理标本烤片:60℃恒温箱内烤带有病理标本石蜡切片的载玻片2h,将病理标本石蜡切片烤干;

[0041] (3) 病理标本切片脱蜡:脱蜡前先将带有病理标本石蜡切片的载玻片在室温中放置60min,让其降温,恢复至于室温一样的温度,后用二甲苯I、二甲苯II、二甲苯III浸泡,每次5min,再将载玻片放置在水酒精I、无水酒精II、无水酒精III中浸泡,每次2min,再依次移至95%酒精I、95%酒精II、85%酒精中浸泡,每次2min,最后用PBS冲洗2min,冲洗掉载玻片上的残留溶液;

[0042] (4) 病理标本切片抗原修复:将冲洗干净后的载玻片放入高压锅中的PH为8.0的抗原修复液中22min,自然冷却40min,PBS冲洗2次,再移至到蒸馏水中浸泡2min,3%双氧水中浸泡8min,PBS冲洗2次,以阻断内源性过氧化物酶;

[0043] (5) 病理标本切片染色:采用苏木素染色2min;

[0044] (6) 病理标本切片滴加抗体:在载玻片上滴加抗体I,再放入孵育湿盒中,连同孵育湿盒一起放入6℃冷藏冰箱中静置9h,取出,室温中静置30min,PBS冲洗2次,滴加抗体II,再放入孵育湿盒中,连同孵育湿盒一起放入37.2℃恒温箱中静置40min,取出,室温中静置30min,PBS冲洗2-3次;

[0045] (7) 病理标本切片显色:DAB显色4min,在显微镜下控制染色的强度,胞浆成棕色者判断为阳性细胞。

[0046] (8) 病理标本切片复染苏木素染液复染1min,盐酸酒精分化3s,PBS冲洗7分钟。

[0047] (9) 病理标本切片封片和镜检,采用显微镜进行镜检。

[0048] 本实施例中,步骤(4)中采用的抗原修复液为EDTA抗原修复液,体积为1400-1500ml。

[0049] 本实施例中,步骤(4)中PBS冲洗每次冲洗5min。

[0050] 本实施例中,步骤(5)中采用苏木素然后用盐酸酒精分化。

[0051] 本实施例中,步骤(6)中PBS冲洗每次冲洗4min。

[0052] 本实施例中,步骤(7)中显色采用DBA显色液显色,DBA显色液显色由DAKO ChemMate EnVision试剂B2ml和DAKO ChemMate EnVision试剂C10 μ l混合而成。

[0053] 本实施例中,步骤(8)中PBS冲洗2次。

[0054] 一种病理标本切片免疫组化操作系统,该系统包括:

[0055] 切片模块:采用石蜡切片机将病理标本石蜡切成薄片;

[0056] 烤片模块:采用烘烤装置将病理标本石蜡切片烤干;

[0057] 脱蜡模块:采用脱蜡缸去除病理标本石蜡切片中的石蜡;

[0058] 抗原修复模块:采用高压锅加热将抗原的暴露和修正;

[0059] 染色模块:采用苏木素对病理标本石蜡切片进行染色;

[0060] 滴加抗体模块:采用DAKO画圈笔和滴管对病理标本石蜡切片滴加抗体;

[0061] 显色模块:采用滴管对病理标本石蜡切片进行显色;

[0062] 封片镜检模块:用于对病理标本石蜡切片进行封片和镜检。

[0063] 本实施例中,在显色模块与封片镜检模块之间还设有复染模块,复染采用苏木素染液复染1min,盐酸酒精分化3s。

[0064] 上述说明示出并描述了本申请的若干优选实施例,但如前所述,应当理解本申请并非局限于本文所披露的形式,不应看作是对其他实施例的排除,而可用于各种其他组合、修改和环境,并能够在本文所述申请构想范围内,通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离本申请的精神和范围,则都应在本申请所附权利要求的保护范围内。

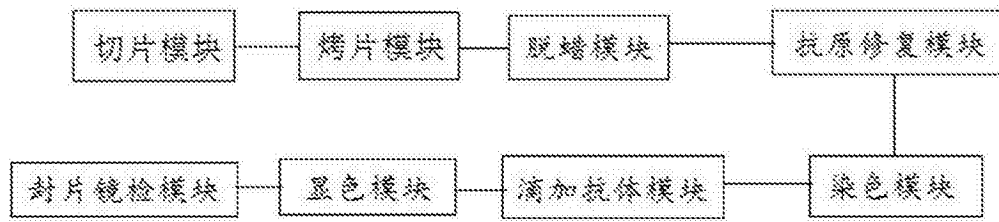


图1

专利名称(译)	一种病理标本切片免疫组化操作方法及其系统		
公开(公告)号	CN107367607A	公开(公告)日	2017-11-21
申请号	CN2017110380142.9	申请日	2017-05-25
[标]申请(专利权)人(译)	长沙金域医学检验所有限公司		
申请(专利权)人(译)	长沙金域医学检验所有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	长沙金域医学检验所有限公司		
[标]发明人	姜美容 周梅华 彭靖 黎娅 商亚彤		
发明人	姜美容 周梅华 彭靖 黎娅 商亚彤		
IPC分类号	G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种病理标本切片免疫组化操作方法及其系统，操作方法包括病理标本石蜡切片、病理标本烤片、病理标本切片脱蜡、病理标本切片抗原修复、病理标本切片染色、病理标本切片滴加抗体、病理标本切片显色、病理标本切片复染、病理标本切片封片和镜检等步骤。本发明采用先用苏木素进行染色滴加抗体I、抗体II，利于抗体的显色，且染色后滴入抗体便于把握组织的大小和位置，减小了滴加抗体时对位置把握的偏差，便于实验规范操作，具有较强的实际应用价值，能有效避免实际的浪费，也能很大程度上减小实验数据的误差。

