



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110553888 A

(43)申请公布日 2019.12.10

(21)申请号 201910875138.9

(22)申请日 2019.09.16

(71)申请人 中国农业科学院特产研究所
地址 130112 吉林省长春市净月经济开发区聚业大街4899号

(72)发明人 王丽英 许保增 赵伟刚 杨镒峰
孟庆江 常彤

(74)专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权
代理有限公司 23211

代理人 邓宇

(51)Int.Cl.

G01N 1/30(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

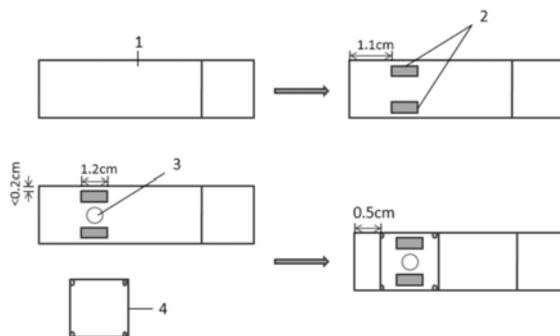
权利要求书1页 说明书2页 附图1页

(54)发明名称

一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法

(57)摘要

一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法,属于细胞生物学技术领域。为了减少卵母细胞染色后观察时荧光淬灭的问题,本发明提供了一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法,步骤如下:取载玻片,在载玻片中间位置靠近边缘处的上下两侧各贴一小块透明胶布,然后将已经染完色的卵母细胞及含有DAPI的封固液置于两胶布正中位置,在盖玻片四角涂上不多于10 μ L的羊毛脂,然后将盖玻片压于载玻片上即可;所述胶布宽0.2-0.3cm,长1.0-1.5cm,粘贴的厚度为37-78 μ m。本发明减少了荧光淬灭风险,为研究卵母细胞发育的分子机制提供新的技术支持。



1. 一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法,其特征在于,步骤如下:取载玻片,在载玻片中间位置靠近边缘处的上下两侧各贴一小块透明胶布,然后将已经染完色的卵母细胞及含有DAPI的封固液置于两胶布正中位置,在盖玻片四角涂上不多于10 μ L的羊毛脂,然后将盖玻片压于载玻片上即可;所述胶布宽0.2-0.3cm,长1.0-1.5cm,粘贴的厚度为37-78 μ m;所述胶布靠近载玻片宽边的一端距离载玻片宽边1.0-1.4cm;靠近载玻片边缘处的胶布长边与载玻片边缘的距离小于0.2cm。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述胶布宽0.3cm,长1.2cm。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述胶布靠近载玻片宽边的一端距离载玻片宽边1.1cm。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述载玻片规格为25mm*75mm;所述盖玻片的规格为25mm*25mm。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述羊毛脂涂抹的量为5 μ L。

一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法

技术领域

[0001] 本发明属于细胞生物学技术领域,具体涉及一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法。

背景技术

[0002] 卵母细胞荧光染色实验常涉及到染多种抗体,为了减少非特异性结合经常采用低温长时间孵育的方法,这已经增加了荧光淬灭的可能性,而最后一步的压片经常需要在显微镜下观察好压片的程度,而又一次大大增加了荧光淬灭的可能性。

发明内容

[0003] 为了减少卵母细胞染色后观察时荧光淬灭的问题,本发明提供了一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法,步骤如下:取载玻片,在载玻片中间位置靠近边缘处的上下两侧各贴一小块透明胶布,然后将已经染完色的卵母细胞及含有DAPI的封固液置于两胶布正中位置,在盖玻片四角涂上不多于10 μ L的羊毛脂,然后将盖玻片压于载玻片上即可;所述胶布宽0.2-0.3cm,长1.0-1.5cm,粘贴的厚度为37-78 μ m;所述胶布靠近载玻片宽边的一端距离载玻片宽边1.0-1.4cm;靠近载玻片边缘处的胶布长边与载玻片边缘的距离小于0.2cm。

[0004] 优选地,所述胶布宽0.3cm,长1.2cm。

[0005] 优选地,所述胶布靠近载玻片宽边的一端距离载玻片宽边1.1cm。

[0006] 优选地,所述载玻片规格为25mm*75mm;所述盖玻片的规格为25mm*25mm。

[0007] 优选地,所述羊毛脂涂抹的量为5 μ L。

[0008] 有益效果

[0009] 本发明利用简单易得的原料快速简便压片,减少了荧光淬灭风险,为研究卵母细胞发育的分子机制提供新的技术支持。

附图说明

[0010] 图1卵母细胞压片制备示意图;其中1为载玻片,2为在载玻片上贴的两块胶布,3为染色后的卵母细胞,4为盖玻片;

[0011] 图2卵母细胞压片成品图;

[0012] 图3卵母细胞荧光显微镜镜检结果,其中红色为连有TRITC的抗体,绿色为连有FITC的抗体,蓝色为DAPI染色效果,a为合并图,b为染色质染色图,c为膜蛋白染色图,d为微丝蛋白染色图。

具体实施方式

[0013] 实施例1. 卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法。

[0014] 本实施例以经过染色的去除透明带的猪卵母细胞为例,描述快速制备压片的方法。

法。

[0015] 取干净的载玻片一张,规格为25mm*75mm,在其中间位置靠近边缘处的上下两侧各贴一小块透明胶布1层,厚度约为38 μ m,所贴的胶布宽0.3cm,长1.2cm,每个胶布靠近载玻片宽边的一端距离载玻片宽边1.1cm,靠近载玻片边缘处的胶布长边与载玻片边缘的距离小于0.2cm,如图1所示;本实施例中使用的盖玻片规格为25mm*25mm,将已经染完色的猪卵母细胞及含有DAPI的商品化的封固液置于两胶布正中位置,在盖玻片四角涂上5 μ L的羊毛脂,用于辅助粘合及支撑盖玻片,然后将盖玻片压于载玻片上,盖玻片距离载玻片边缘距离为0.5cm,于暗盒中等封固液固化即可进行检测。

[0016] 实施例2.重复实施例1,与实施例1的不同在于,本实施例中羊毛脂的涂抹量为10 μ L。

[0017] 实施例3.重复实施例1,与实施例1的不同在于,本实施例中所贴的胶布宽0.2cm,长1.5cm。

[0018] 对比例1.重复实施例1,与实施例1的不同在于,本对比例中载玻片上未粘贴胶布。

[0019] 以实施例1为例,采用激光共聚焦显微镜观察猪卵母细胞,结果如下,利用本发明方法制备的压片,可清晰看到显示蓝色荧光的染色质,显示圈状绿色荧光的膜蛋白以及有圈状红色荧光的微丝蛋白。而对比例1中的压片方法观察到的是整面的红色或绿色荧光。

[0020] 虽然本发明已以较佳的实施例公开如上,但其并非用以限定本发明,任何熟悉此技术的人,在不脱离本发明的精神和范围内,都可以做各种改动和修饰,因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

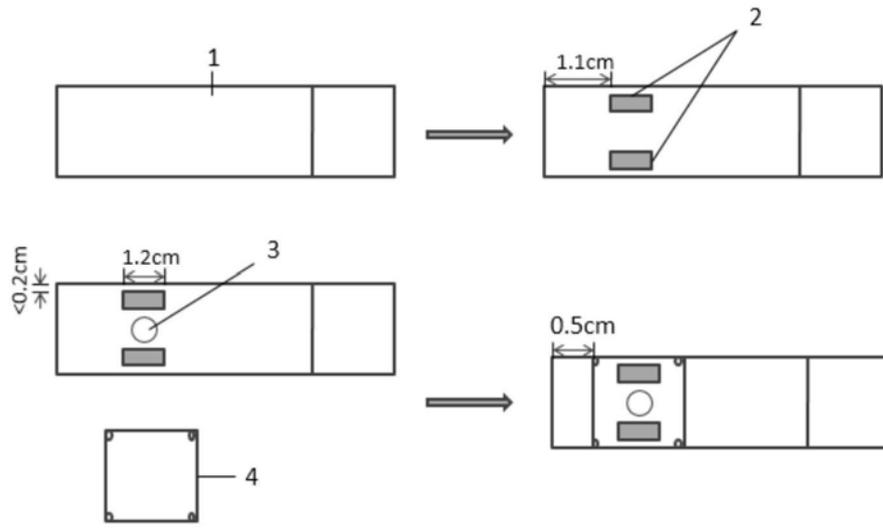


图1

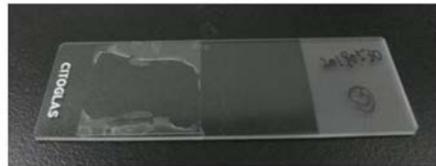


图2

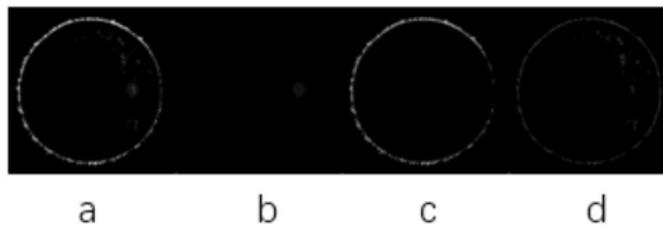


图3

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法 | | |
| 公开(公告)号 | CN110553888A | 公开(公告)日 | 2019-12-10 |
| 申请号 | CN201910875138.9 | 申请日 | 2019-09-16 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 中国农业科学院特产研究所 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 中国农业科学院特产研究所 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 中国农业科学院特产研究所 | | |
| [标]发明人 | 王丽英 许保增 赵伟刚 杨溢峰 孟庆江 常彤 | | |
| 发明人 | 王丽英 许保增 赵伟刚 杨溢峰 孟庆江 常彤 | | |
| IPC分类号 | G01N1/30 G01N33/533 | | |
| CPC分类号 | G01N1/30 G01N33/533 | | |
| 代理人(译) | 邓宇 | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法，属于细胞生物学技术领域。为了减少卵母细胞染色后观察时荧光淬灭的问题，本发明提供了一种卵母细胞免疫荧光染色后快速压片的方法，步骤如下：取载玻片，在载玻片中间位置靠近边缘处的上下两侧各贴一小块透明胶布，然后将已经染完色的卵母细胞及含有DAPI的封固液置于两胶布正中位置，在盖玻片四角涂上不多于10 μ L的羊毛脂，然后将盖玻片压于载玻片上即可；所述胶布宽0.2-0.3cm，长1.0-1.5cm，粘贴的厚度为37-78 μ m。本发明减少了荧光淬灭风险，为研究卵母细胞发育的分子机制提供新的技术支持。

