



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110320354 A

(43)申请公布日 2019.10.11

(21)申请号 201910670249.6

(22)申请日 2019.07.24

(71)申请人 无锡市妇幼保健院

地址 214002 江苏省无锡市梁溪区槐树巷  
48号

(72)发明人 印永祥 陈道楨 赵华 张琪  
梁洁

(74)专利代理机构 福州市景弘专利代理事务所  
(普通合伙) 35219

代理人 林祥翔 黄以琳

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

G01N 1/30(2006.01)

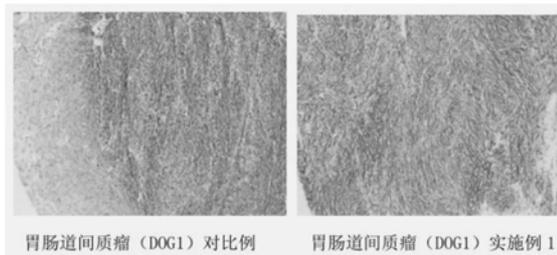
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种抗原修复液及使用方法

(57)摘要

发明人首先提供了一种抗原修复液,每1000mL的抗原修复液中包括:每1000mL的抗原修复液中包括:0.0008mol-0.0012mol的乙二胺四丙酸、1ml-5ml丙三醇,余量为纯化水。乙二胺四丙酸四钠盐和丙三醇的组合,可对组织进行有效修复。同时使得修复液的极性加强,修复液对修复组织的接触角减小,对组织的浸润性提高,修复液在切片上可出现挂片的情况,避免干片或组织重新氧化。



1. 一种抗原修复液,所述抗原修复液适用于免疫组化染色,其特征在于:每1000mL的抗原修复液中包括:0.0008mol-0.0012mol的乙二胺四丙酸、1ml-5ml丙三醇,余量为纯化水。

2. 根据权利要求1所述的抗原修复液,其特征在于,每1000mL的抗原修复液中包括:0.0008mol-0.0012mol的乙二胺四丙酸、0.003mol-0.005mol的金属钠离子,1ml-5ml丙三醇,余量为纯化水。

3. 根据权利要求1所述的抗原修复液,其特征在于,每1000mL的抗原修复液中包括:0.001mol乙二胺四丙酸四钠盐、2ml丙三醇,余量为纯化水。

4. 根据权利要求1所述的抗原修复液,其特征在于,所述抗原修复液用Tris base调节pH值至8.8-9.2。

5. 权利要求1所述抗体修复液的使用方法,其特征在于,所述使用方法包括以下步骤:

将权利要求1所述抗原修复液加热至沸腾;将待修复组织的切片放入沸腾的抗原修复液中,继续沸腾20分钟;修复液冷却后取出切片。

6. 根据权利要求5所述的使用方法,其特征在于,所述切片在抗原修复前,先进行脱蜡、水化前处理。

## 一种抗原修复液及使用方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及免疫组化技术领域,具体涉及一种抗原修复液及使用方法。

### 背景技术

[0002] 免疫组织化学技术是近年来病理诊断迅速发展的检测技术,作为一种重要的病理辅助诊断方法,在临床的应用中日益受到重视。抗原修复在整个免疫组化染色过程中有着极其重要的作用,修复条件的好坏决定着最终染色结果的质量。目前的抗原修复液有很多品种,如EDTA抗原修复液、柠檬酸抗原修复液以及酶修复液等等。

[0003] 目前,最常用的还是热修复。热修复过程中,由于修复液持续沸腾挥发,导致修复液损失,组织切片最后有可能出现离液的情况,组织离液部分暴露于空气中,可能会发生组织氧化及干片的情况,影响后续的免疫组化染色,甚至造成染色结果的假阴性。因此在抗原修复过程中,往往都添加大量的修复液,而修复液为化学试剂产品,大量使用也会对环境造成影响。

### 发明内容

[0004] 为了解决背景技术所述的情况,发明人提供了一种新的抗原修复液,所述抗原修复液不但具有较强的抗原修复功能,同时能有效浸润待修复组织的抗原修复液,防止待修复组织在抗原修复过程中发生氧化及干片情况的,也能减少修复液的用量,避免造成浪费,对环境友好。

[0005] 为实现目的,发明人首先提供了一种抗原修复液,所述抗原修复液适用于免疫组化染色,每1000mL的抗原修复液中包括:0.0008mol-0.0012mol的乙二胺四丙酸、1ml-5ml丙三醇,余量为纯化水。

[0006] 进一步地,每1000mL的抗原修复液中包括:0.0008mol-0.0012mol的乙二胺四丙酸、0.003mol-0.005mol的金属钠离子,1ml-5ml丙三醇,余量为纯化水。

[0007] 进一步地,每1000mL的抗原修复液中包括:0.001mol乙二胺四丙酸四钠盐、2ml丙三醇,余量为纯化水

[0008] 进一步地,所述抗原修复液用Tris base调节pH值至8.8-9.2。

[0009] 其次,发明人还提供了上述抗原修复液的使用方法,所述使用方法包括以下步骤:

[0010] 将权利要求1所述抗原修复液加热至沸腾;将待修复组织的切片放入已沸腾的修复液中,继续沸腾20分钟;修复液冷却后取出切片。

[0011] 进一步地,所述切片在抗原修复前,先进行脱蜡、水化前处理。

[0012] 区别于现有技术,上述技术方案采用了乙二胺四丙酸和丙三醇作为抗原修复液的成分,乙二胺四丙酸和丙三醇的组合,可对组织进行有效修复,有特别是对富含脂肪的组织有更好的效果。同时修复液相比EDTA对修复组织的接触角减小,对组织的浸润性提高,修复液在切片上可出现挂片的情况,避免组织干片或组织重新氧化。

## 附图说明

- [0013] 图1为阑尾组织进行抗原修复后的Actin抗体染色结果对比图；  
[0014] 图2为乳腺癌组织进行抗原修复后的ER抗体染色结果对比图；  
[0015] 图3乳腺癌组织进行抗原修复后的P120抗体染色结果对比图；  
[0016] 图4为胃肠道间质瘤组织干片试验的DOG1抗体染色结果对比图。

## 具体实施方式

[0017] 为详细说明技术方案的技术内容、构造特征、所实现目的及效果，以下结合具体实施例并配合附图详予说明。

[0018] 实施例1抗原修复液的配制：

[0019] 将0.001mol乙二胺四丙酸四钠盐、2ml丙三醇，加入纯化水至1000ml，搅拌均匀，使用Tris base调节pH值至9.0，得到抗原修复液。

[0020] 修复液中含有的乙二胺四丙酸和丙三醇，乙二胺四丙酸相比传统EDTA，具有更好的修复效果。同时，相比普通EDTA修复液，本发明修复液对待修复组织的接触角减小，对组织的浸润性提高。在离液的切片上可出现挂片或成膜的情况，避免干片或组织重新氧化。而钠盐加入，增加修复液的阳离子浓度，可能有助于乙二胺四丙酸和组织上钙离子的螯合过程。

[0021] 实施例2抗体修复液的配制：

[0022] 将0.0008mol乙二胺四丙酸四钠盐、1ml丙三醇，加入纯化水至1000ml，搅拌均匀，使用Tris base调节pH值至9.0，得到抗原修复液。

[0023] 实施例3抗体修复液的配制：

[0024] 将0.0012mol乙二胺四丙酸四钠盐、5ml丙三醇，加入纯化水至1000ml，搅拌均匀，使用Tris base调节pH值至9.0，得到抗原修复液。

[0025] 1、染色试验：用实施例1配制的抗体修复液和市售的EDTA抗体修复液（对比例）对表1所述20个组织进行修复，并用相同的抗体对组织进行染色。

[0026] 实施例1的抗体修复液和对比例抗原修复液的使用步骤如下：

[0027] (1) 石蜡切片脱蜡、水化，自来水冲洗并浸泡于水中待用；

[0028] (2) 取配置好的抗原修复液于不锈钢锅中，将不锈钢锅放置于电磁炉上，大功率加热至沸腾；

[0029] (3) 将切片置于耐高温染色架上，放入已沸腾的修复液中，盖上锅盖，继续沸腾加热20分钟；

[0030] (4) 将不锈钢锅离开电磁炉，自然冷却至室温后取出切片，自来水冲洗干净，PBS冲洗后进行后续操作。

[0031] 将修复好的组织进行常规免疫组化染色，比较染色结果。

[0032] 修复的组织及抗体名称见下表1：

[0033] 表1修复的组织及抗体名称

[0034]

组织名称	抗体名称	组织名称	抗体名称
阑尾	Actin	胶质瘤	NFKappa B/p50
恶性纤维组织细胞瘤	AAT	乳腺癌	P120
垂体	ACTH	卵巢浆液性囊腺癌	P53
甲状腺	Calcitonin	乳腺癌	Her2
扁桃体	CXCL-13	胃	Serotonin
胃肠道间质瘤	DOG1	神经鞘瘤	S100
乳腺癌	ER	胃腺癌	Somatostatin
肝细胞癌	MGMT	胰腺	Synaptophysin
阑尾炎	MPO	乳腺癌	TGF- $\beta$ 1
横纹肌	Myoglobin	结节性甲状腺肿	Thyroglobulin

[0035] 以上20例修复组织染色结果中,1例阑尾组织(Actin)、3例乳腺癌(ER\P120\Her2)、1例卵巢浆液性囊腺癌(P53),使用实施例1抗原修复液的组织染色强度高于对比例,见图1-3。其余15例染色结果没有明显区别。说明本发明的抗原修复液可有效应用于各种组织的修复上,特别是在富含脂肪组织抗原修复上,相比现有的修复液,具有更好的修复效果。

[0036] 2、浸润性试验:

[0037] 将实施例1的抗原修复液和市售EDTA抗原修复液分别对30例组织进行修复,实施例1的抗体修复液和对比例抗原修复液的使用步骤如下:

[0038] 1) 石蜡切片脱蜡、水化,自来水冲洗并浸泡于水中待用;

[0039] 2) 取配置好的抗原修复液于不锈钢锅中,将不锈钢锅放置于电磁炉上,大功率加热至沸腾;修复液的加入量为300ml。

[0040] 3) 将切片置于耐高温染色架上,放入已沸腾的修复液中,盖上锅盖,小功率继续沸腾加热20分钟;

[0041] 4) 将不锈钢锅离开电磁炉,修复液自然冷却至室温后取出切片。

[0042] 修复完成后,组织切片已高于修复液的液面,有部分组织暴露于空气中。将修复后的切片继续进行染色试验。

[0043] 试验结果:发现用市售EDTA修复的切片,23例出现暴露在空气中部分染色部分较弱或干片不染色的情况。而采用本发明抗原修复液的切片,10例出现暴露在空气中部分染

色较弱的情况,没有出现干片的情况。染色结果见图4,胃肠道间质瘤组织干片试验的DOG1抗体染色结果对比图。

[0044] 综上,本发明所提供的抗原修复液,可有效应用于各种福尔马林固定组织的修复上,特别是在含有脂肪组织抗原修复上。同时,抗原修复液的对组织的浸润性更好,离液的切片不易发生干片的情况。

[0045] 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、物品或者终端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、物品或者终端设备所固有的要素。在没有更多限制的情况下,由语句“包括……”或“包含……”限定的要素,并不排除在包括所述要素的过程、方法、物品或者终端设备中还存在另外的要素。此外,在本文中,“大于”、“小于”、“超过”等理解为不包括本数;“以上”、“以下”、“以内”等理解为包括本数。

[0046] 需要说明的是,尽管在本文中已经对上述各实施例进行了描述,但并非因此限制本发明的专利保护范围。因此,基于本发明的创新理念,对本文所述实施例进行的变更和修改,或利用本发明说明书及附图内容所作的等效结构或等效流程变换,直接或间接地将以上技术方案运用在其他相关的技术领域,均包括在本发明的专利保护范围之内。

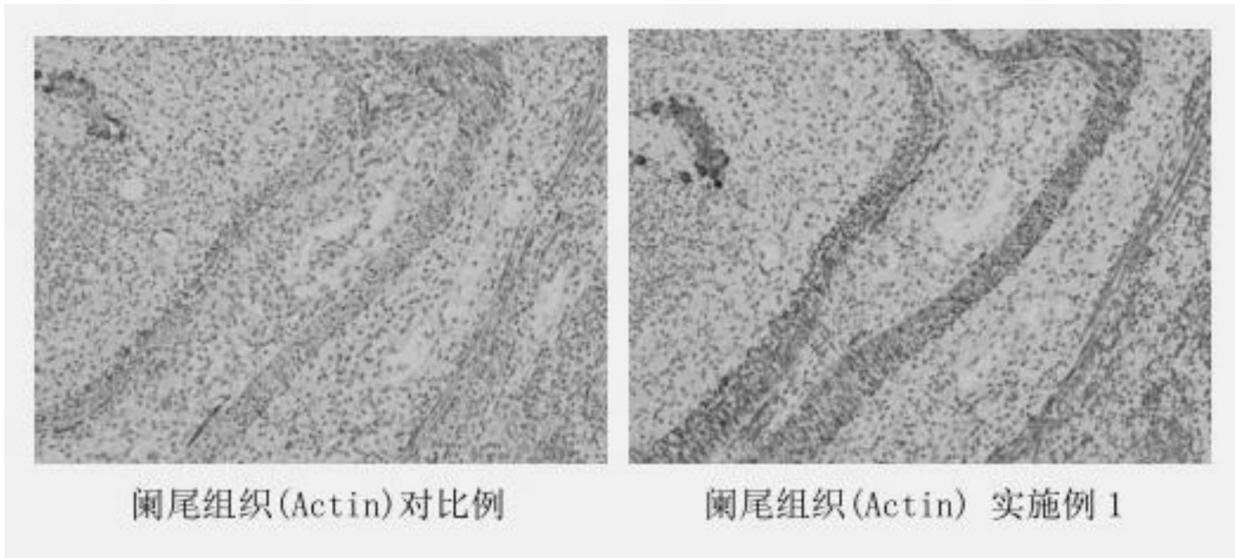


图1

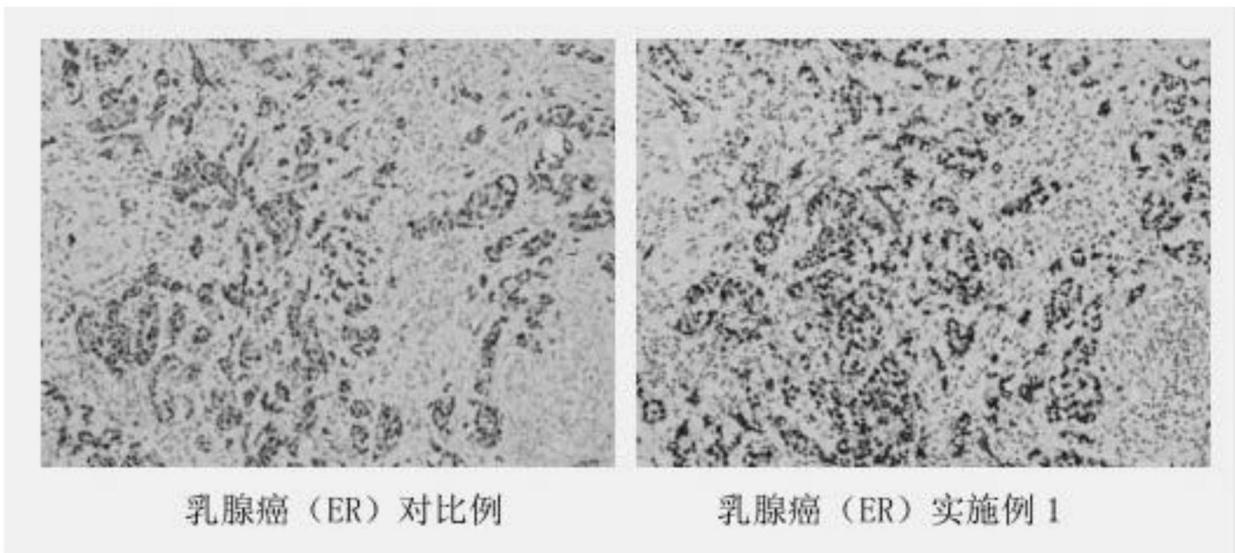


图2

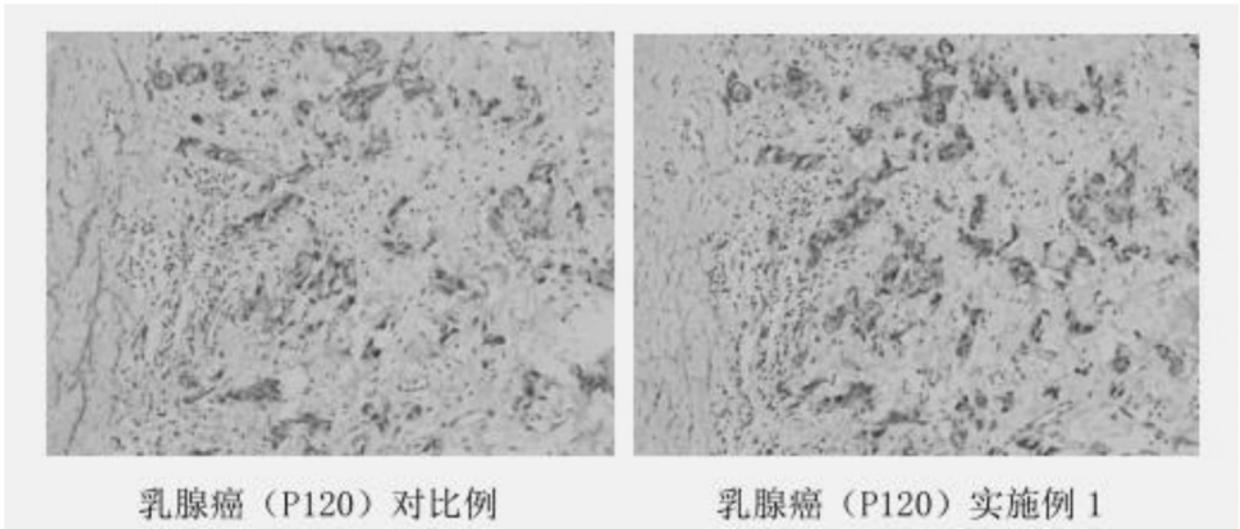


图3

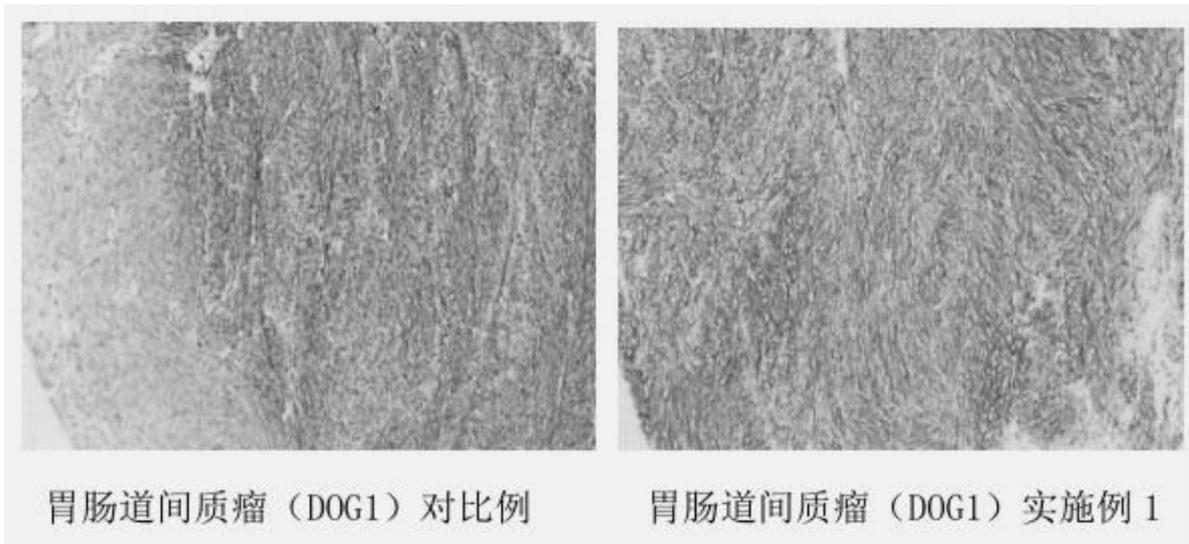
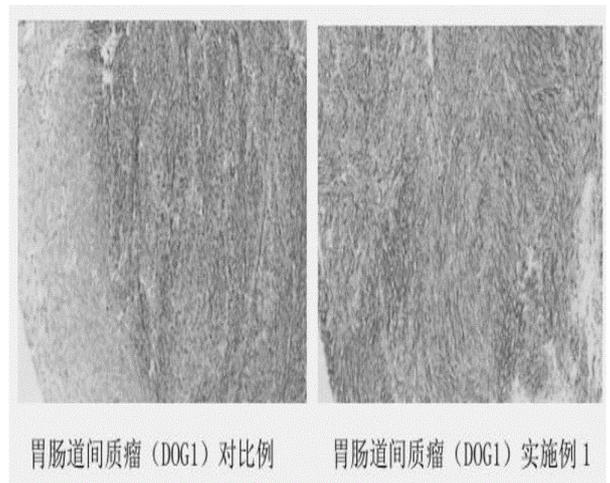


图4

专利名称(译)	一种抗原修复液及使用方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN110320354A</a>	公开(公告)日	2019-10-11
申请号	CN201910670249.6	申请日	2019-07-24
[标]申请(专利权)人(译)	无锡市妇幼保健院		
申请(专利权)人(译)	无锡市妇幼保健院		
当前申请(专利权)人(译)	无锡市妇幼保健院		
[标]发明人	印永祥 陈道桢 赵华 张琪 梁洁		
发明人	印永祥 陈道桢 赵华 张琪 梁洁		
IPC分类号	G01N33/531 G01N1/30		
CPC分类号	G01N1/30 G01N33/531		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

发明人首先提供了一种抗原修复液，每1000mL的抗原修复液中包括：每1000mL的抗原修复液中包括：0.0008mol-0.0012mol的乙二胺四丙酸、1ml-5ml丙三醇，余量为纯化水。乙二胺四丙酸四钠盐和丙三醇的组合，可对组织进行有效修复。同时使得修复液的极性加强，修复液对修复组织的接触角减小，对组织的浸润性提高，修复液在切片上可出现挂片的情况，避免干片或组织重新氧化。



胃肠道间质瘤 (DOG1) 对比例

胃肠道间质瘤 (DOG1) 实施例 1