



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110320087 B

(45) 授权公告日 2021.03.02

(21) 申请号 201910696606.6

(22) 申请日 2019.07.30

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110320087 A

(43) 申请公布日 2019.10.11

(73) 专利权人 河南赛诺特生物技术有限公司
地址 450001 河南省郑州市高新技术产业
开发区翠竹街1号109号

(72) 发明人 牛银银 刘玲玲 米贯勋 杨潇燕
臧素芳 齐华 李道明 张会娟
曹巍

(74) 专利代理机构 郑州睿信知识产权代理有限
公司 41119
代理人 牛爱周 吴晓亭

(51) Int.Cl.

G01N 1/31 (2006.01)

G01N 33/532 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 104990781 A, 2015.10.21

CN 109870579 A, 2019.06.11

CN 102876631 A, 2013.01.16

CN 107548461 A, 2018.01.05

苏宝山 等. 皮肤免疫组化及原位杂交染色
中蓝色DAB显色的应用. 《实用医技杂志》. 2004,
第11卷(第4期),

审查员 杨涛

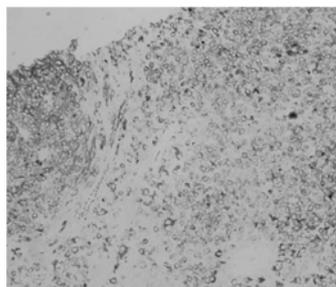
权利要求书1页 说明书6页 附图5页

(54) 发明名称

一种含色素组织免疫组化染色试剂盒及染色方法

(57) 摘要

本发明涉及一种含色素组织免疫组化染色试剂盒及染色方法,属于免疫染色技术领域。本发明中的染色试剂盒中过氧化物酶封闭剂可以对组织的内源性过氧化物酶进行封闭,避免内源性过氧化物酶对于染色结果的影响;过氧化物酶标二抗聚合物是基于HRP酶标系统,具有较高的灵敏度;基于过氧化物酶系统的蓝染底物和与蓝染底物匹配的蓝染缓冲液构成蓝染显色液,蓝染显色液在HRP酶的催化作用下,在抗原靶标位置形成蓝色的颗粒沉淀,可在显微镜下观察;并且在组织的阳性部位定位准确,信号清晰,与有色物质(黑色素或碳颗粒)对比鲜明,免疫组化结果清晰可辨。本发明中的酶标体系灵敏度高,特异性好,染色背景干净。



1. 一种含色素组织免疫组化染色试剂盒,其特征在於:包括过氧化物酶封闭剂、过氧化物酶标二抗聚合物、基于过氧化物酶系统的蓝染底物、与蓝染底物匹配的蓝染缓冲液和红色衬染剂;所述蓝染底物中包括:联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl、氯化钠和丙二醇;所述蓝染缓冲液中包括NiCl₂·H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油。

2. 根据权利要求1所述的含色素组织免疫组化染色试剂盒,其特征在於:所述蓝染底物的pH为7.3-7.9;所述蓝染底物中联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl 缓冲液、氯化钠和丙二醇的质量-摩尔-体积比为8-12g:0.3-0.7g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:450-550mL。

3. 根据权利要求1所述的含色素组织免疫组化染色试剂盒,其特征在於:所述蓝染缓冲液的pH为7.3-7.9;所述蓝染缓冲液中NiCl₂·6H₂O、H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油的质量-摩尔-体积比为4-7g:0.5-1.5g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:45-55mL。

4. 一种含色素组织免疫组化染色方法,其特征在於:包括如下步骤:

1) 取待检测的含色素组织切片滴加过氧化物酶封闭剂,进行内源性过氧化物酶的封闭;

2) 使用靶标抗体对组织切片进行孵育,然后使用过氧化物酶标二抗聚合物进行孵育;

3) 使用蓝染显色液对组织切片于常温孵育染色5-10min;所述蓝染显色液中包括:基于过氧化物酶系统的蓝染底物和与蓝染底物匹配的蓝染缓冲液;

4) 使用红色衬染剂对组织切片进行衬染;

所述蓝染底物中包括:联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl、氯化钠和丙二醇;所述蓝染缓冲液中包括NiCl₂·H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油。

5. 根据权利要求4所述的含色素组织免疫组化染色方法,其特征在於:所述蓝染底物的pH为7.3-7.9;所述蓝染底物中联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl 缓冲液、氯化钠和丙二醇的质量-摩尔-体积比为8-12g:0.3-0.7g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:450-550mL;

所述蓝染缓冲液的pH为7.3-7.9;所述蓝染缓冲液中NiCl₂·6H₂O、H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油的质量-摩尔-体积比为4-7g:0.5-1.5g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:45-55mL;

所述蓝染底物中联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵的使用浓度为0.04-0.06%;所述蓝染缓冲液中氯化钠的使用浓度为0.05-0.15mol/L。

6. 根据权利要求4所述的含色素组织免疫组化染色方法,其特征在於:所述含色素组织为黑色素瘤组织或肺腺癌组织。

7. 根据权利要求6所述的含色素组织免疫组化染色方法,其特征在於:当所述含色素组织为黑色素瘤组织时,所述靶标抗体为HMB45、Melan A、S100或CD63抗体。

8. 根据权利要求6所述的含色素组织免疫组化染色方法,其特征在於:当所述含色素组织为肺腺癌组织时,所述靶标抗体为EMA或CD68抗体。

一种含色素组织免疫组化染色试剂盒及染色方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种含色素组织免疫组化染色试剂盒及染色方法,属于免疫染色技术领域。

背景技术

[0002] 免疫组织化学染色技术是应用免疫学基本原理-抗原抗体反应,即抗原与抗体特异性结合的原理,通过化学反应使标记抗体的显色剂显色来确定组织切片或者细胞内抗原(多肽和蛋白质),对其进行定位、定性或定量研究的技术,具有特异、灵敏、准确等特点,予形态、机能、代谢为一体。该项技术在现代病理诊断工作中具有重要的作用。

[0003] 目前,最常规的免疫组化显色方式是基于HRP酶标系统,显色底物为DAB的检测系统。在病理科的日常免疫组化检测工作中,存在一部分病理组织,这些组织中含有与DAB显色颗粒颜色近似的色素或者其他物质,如黑素瘤中的黑色素、肺癌组织中的碳颗粒等。这些物质大量的分布在组织细胞上,遮盖了组织细胞的形态结构,在采用传统的免疫组化显色方法时,DAB呈现的棕褐色或者棕褐色与这些物质的色彩难以区分,严重影响其免疫组化结果的判读。

[0004] 传统的解决办法一般有两种,一种方法是在进行免疫组化试验前,对组织进行去黑素处理,采用强氧化剂去除色素,但是黑色素表现稳定,强烈的氧化处理容易导致组织切片中的部分抗原丢失和试验过程中的组织脱片问题,同时,碳颗粒等其他物质用强氧化剂也无法去除,该方法存在很多的局限性;另外一种方法是采用基于AP酶标系统,显色底物为FAST RED的检测系统进行这类组织的检测,该显色系统的阳性颗粒为红色,可以和色素进行区分,但是,此检测系统灵敏度低,操作时间长,易产生背景着色。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种含色素组织免疫组化染色试剂盒,能够用于含色素组织的免疫组化染色。

[0006] 本发明还提供了含色素组织免疫组化染色方法,能够在不去除组织色素时对于组织进行清晰的着色,并且具有较高的灵敏度。

[0007] 为了实现上述目的,本发明所采用的技术方案是:

[0008] 一种含色素组织免疫组化染色试剂盒,包括过氧化物酶封闭剂、过氧化物酶标二抗聚合物、基于过氧化物酶系统的蓝染底物、与蓝染底物匹配的蓝染缓冲液和红色衬染剂。

[0009] 本发明中的染色试剂盒中过氧化物酶封闭剂可以对组织的内源性过氧化物酶进行封闭,避免内源性过氧化物酶对于染色结果的影响;过氧化物酶标二抗聚合物是基于HRP酶标系统,具有较高的灵敏度;基于过氧化物酶系统的蓝染底物和与蓝染底物匹配的蓝染缓冲液构成蓝染显色液,在组织的阳性部位定位准确,信号清晰,与有色物质(黑色素或碳颗粒)对比鲜明,免疫组化结果在自然光下清晰可辨,无需使用荧光观察;红色衬染剂能够将组织细胞核染成红色,作为阳性显色的衬色。

[0010] 本发明中的蓝染底物在反应后生成蓝色沉淀,在自然光下显色为蓝色,能够与黑色素或碳颗粒区分开。优选的,所述蓝染底物中包括:联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl、氯化钠和丙二醇。更为优选的,所述蓝染底物的pH为7.3-7.9;所述蓝染底物中联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl 缓冲液、氯化钠和丙二醇的质量-摩尔-体积比为8-12g:0.3-0.7g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:450-550mL。

[0011] 本发明中的蓝染缓冲液为蓝染底物的显色提供H₂O₂。优选的,所述蓝染缓冲液中包括NiCl₂·6H₂O、H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油。更为优选的,所述蓝染缓冲液的pH为7.3-7.9;所述蓝染缓冲液中NiCl₂·6H₂O、H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油的质量-摩尔-体积比为4-7g:0.5-1.5g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:45-55mL。

[0012] 优选的,所述蓝染底物和蓝染缓冲液中均含有0.001%-0.0015%的抑菌剂,用于抑制细菌;更为优选的,所述抑菌剂为ProClin 950。

[0013] 上述的蓝染底物和蓝染缓冲液配套使用,进一步优选的,蓝染底物和蓝染缓冲液购自河南赛诺特生物技术有限公司;货号:SN640306。优选的,红色衬染剂为固红染剂。

[0014] 一种含色素组织免疫组化染色方法,包括如下步骤:

[0015] 1) 取待检测的含色素组织切片滴加过氧化物酶封闭剂,进行内源性过氧化物酶的封闭;

[0016] 2) 使用靶标抗体对组织切片进行孵育,然后使用过氧化物酶标二抗聚合物进行孵育;

[0017] 3) 使用蓝染显色液对组织切片于常温孵育染色5-10min;所述蓝染显色液中包括:基于过氧化物酶系统的蓝染底物和与蓝染底物匹配的蓝染缓冲液;

[0018] 4) 使用红色衬染剂对组织切片进行衬染。

[0019] 本发明中的含色素组织免疫组化染色方法,使用了蓝染显色液对于组织切片进行染色,蓝染显色液在HRP酶的催化作用下,在抗原靶标位置形成蓝色的颗粒沉淀,可在显微镜下观察;并且在组织的阳性部位定位准确,信号清晰,与有色物质(黑色素或碳颗粒)对比鲜明,免疫组化结果清晰可辨。本发明中的酶标体系灵敏度高,特异性好,染色背景干净。

[0020] 优选的,所述蓝染底物中包括:联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl、氯化钠和丙二醇。更为优选的,所述蓝染底物的pH为7.3-7.9;所述蓝染底物中联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵、6-甲氧基-2-萘酚、Tris-HCl 缓冲液、氯化钠和丙二醇的质量-摩尔-体积比为8-12g:0.3-0.7g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:450-550mL。

[0021] 优选的,所述蓝染缓冲液中包括NiCl₂·6H₂O、H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油。更为优选的,所述蓝染缓冲液的pH为7.3-7.9;所述蓝染缓冲液中NiCl₂·6H₂O、H₂O₂、Tris-HCl、氯化钠和甘油的质量-摩尔-体积比为4-7g:0.5-1.5g:0.05-0.15mol:0.05-0.15mol:45-55mL。

[0022] 优选的,所述蓝染底物中联苯3,3,'4,4'-四氯化四亚铵的使用浓度为0.04-0.06%;所述蓝染缓冲液中氯化钠的使用浓度为0.05-0.15mol/L。

[0023] 优选的,所述含色素组织为黑色素组织或肺腺癌组织。使用本发明中的方法对该色素组织进行染色,无需去色素即可达到较好的染色效果。

[0024] 优选的,当所述含色素组织为黑色素组织时,所述靶标抗体为HMB45、Melan A、S100或CD63抗体。其中,该处对于这四种靶标的检测,仅用于非疾病诊断领域,如纯用于科学研究的免疫组化染色。

[0025] 优选的,当所述含色素组织为肺腺癌组织时,所述靶标抗体为EMA或CD68抗体。其中,该处对于这两种靶标的检测,仅用于非疾病诊断领域,如纯用于科学研究的免疫组化染色。

附图说明

[0026] 图1为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例2中染色5min的HMB45抗体免疫组化试验显色效果图;

[0027] 图2为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例2中染色8min的HMB45抗体免疫组化试验显色效果图;

[0028] 图3为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例2中染色10min HMB45抗体的免疫组化试验显色效果图;

[0029] 图4为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例2中染色5min的Melan A抗体免疫组化试验显色效果图;

[0030] 图5为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例2中染色8min的Melan A抗体免疫组化试验显色效果图;

[0031] 图6为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例2中染色10min的Melan A抗体免疫组化试验显色效果图;

[0032] 图7为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例3中S100抗体在黑素瘤组织切片上的阳性结果图;

[0033] 图8为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例3中CD63抗体在黑素瘤组织切片上的阳性结果图;

[0034] 图9为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例3中EMA抗体在肺腺癌组织切片上的阳性结果图;

[0035] 图10为本发明含色素组织免疫组化染色方法的实施例3中CD68抗体在肺腺癌组织切片上的阳性结果图;

[0036] 图11为本发明黑色素瘤组织免疫组化染色方法的对比例1中染色10min的HMB45抗体免疫组化试验显色效果图;

[0037] 图12为本发明黑色素瘤组织免疫组化染色方法的对比例1中染色30min的HMB45抗体免疫组化试验显色效果图;

[0038] 图13为本发明黑色素瘤组织免疫组化染色方法的对比例1中染色10min的Melan A抗体免疫组化试验显色效果图;

[0039] 图14为本发明黑色素瘤组织免疫组化染色方法的对比例1中染色30min的Melan A抗体免疫组化试验显色效果图。

具体实施方式

[0040] 下面结合具体实施例对本发明做进一步的详细说明。除特殊说明的之外,各实施例及试验例中所用的设备和试剂均可从商业途径得到。所使用到的试剂有过氧化物酶封闭剂(厂家:河南赛诺特生物技术有限公司;货号:SN640501),酶标羊抗鼠/兔聚合物(厂家:河南赛诺特生物技术有限公司;货号:SN640502),蓝染底物(厂家:河南赛诺特生物技术有限

公司;货号:SN640306),蓝染缓冲液(厂家:河南赛诺特生物技术有限公司;货号:SN640306)和核固红复染液(厂家:生工生物工程(上海)股份有限公司;货号:E670101-0100)。

[0041] 以下实施例中使用的蓝染底物的配方为:

[0042] 1%的Biphenyl 3,3',4,4'-Tetra Tetraammonium Tetrachloride(联苯3,3',4,4'-四氯化四亚铵);0.05%的6-Methoxy-2-naphthol(6-甲氧基-2-萘酚);0.1M Tris-HCl缓冲液;0.1M 氯化钠;50% 丙二醇;0.001%-0.0015% ProClin 950(抑菌剂),pH值为7.6。

[0043] 以下实施例中使用的蓝染缓冲液的配方:

[0044] 0.5% $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;0.1% H_2O_2 ;0.1M Tris-HCl缓冲液;0.1M氯化钠;5%的甘油;0.001%-0.0015% ProClin 950(抑菌剂);pH值为7.6。

[0045] 蓝染显色液由1mL蓝染缓冲液和一滴(约0.05mL)蓝染底物组成。

[0046] 含色素组织免疫组化染色试剂盒的实施例1

[0047] 本实施例中含色素组织免疫组化染色试剂盒种包括如下组分,包括100mL过氧化物酶封闭剂、100mL酶标羊抗鼠/兔聚合物溶液、3mL蓝染底物、100mL蓝染缓冲液和100mL核固红复染液。

[0048] 含色素组织免疫组化染色方法的实施例1

[0049] 本实施例中含色素组织免疫组化染色方法,包括如下步骤:

[0050] 1)取待检测的含色素组织切片滴加过氧化物酶封闭剂,进行内源性过氧化物酶的封闭;

[0051] 2)使用靶标抗体对于组织切片进行孵育,然后使用过氧化物酶标二抗聚合物进行孵育;

[0052] 3)使用蓝染显色液对于组织切片于常温孵育染色5-10min;所述蓝染显色液中包括:基于过氧化物酶系统的蓝染底物和与蓝染底物匹配的蓝染缓冲液;

[0053] 4)使用红色衬染剂对于组织切片进行衬染。

[0054] 含色素组织免疫组化染色方法的实施例2

[0055] 本实施例中含色素组织免疫组化染色方法,包括如下步骤:

[0056] 1)取黑素瘤组织一个,制备石蜡组织切片6张,厚度为3微米,60℃烤片1个小时。

[0057] 2)组织切片进行常规的脱蜡水化:二甲苯I和II各孵育15分钟,无水乙醇I和II各孵育5分钟,95%乙醇、80%乙醇和70%乙醇依次各孵育5分钟,纯水水洗,浸泡3分钟*3次。

[0058] 3)抗原修复:采用Tris-EDTA(pH9.0)修复液,高压修复3分钟,自然冷却,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0059] 4)封闭剂封闭:过氧化物酶封闭剂孵育,进行内源性过氧化物酶的封闭;每张切片100微升试剂,常温孵育5分钟,PBST缓冲液清洗,浸泡3分钟*3次。

[0060] 5)抗体孵育:其中1号、2号和3号切片孵育抗体HMB45,4号、5号和6号切片孵育抗体MelanA,常温孵育50分钟,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0061] 6)酶标羊抗鼠/兔聚合物溶液孵育:所有切片常规孵育20分钟,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0062] 7)蓝染显色液孵育:每张组织切片滴加100微升的蓝染显色液,蓝染显色液由1ml的蓝染缓冲液滴加1滴的蓝染底物,混合均匀得到,现配现用。

[0063] 1号和4号切片常温孵育5分钟,2号和5号切片常温孵育8分钟,3号和6号切片常温

孵育10分钟,纯水清洗,浸泡3分钟*3次。

[0064] 8) 衬染:固红染色液孵育5分钟,纯水清洗,浸泡3分钟*3次。

[0065] 9) 水性封片胶封片。

[0066] 染色结果如图1-6所示,分别对应1-6号切片。图1、图2和图3为HMB45的免疫组化试验显色效果;图4、图5和图6为Melan A的免疫组化试验显色效果。图1和图4对应的孵育时间为5分钟,图2和图5对应的孵育时间为8分钟,图3和图6对应的孵育时间为10分钟。所有图片的染色结果良好,阳性结果与组织上的色素对比明显,信号清晰。研究表明,本发明通过一种特殊的酶标底物显色系统,很大程度上解决了有色组织的免疫组化读片问题。

[0067] 含色素组织免疫组化染色方法的实施例3

[0068] 本实施例中含色素组织免疫组化染色方法,包括如下步骤:

[0069] 1) 取黑素瘤组织和肺腺癌组织各一个,分别制备石蜡组织切片2张,厚度为3微米,60℃烤片1个小时。

[0070] 2) 组织切片进行常规的脱蜡水化:二甲苯I和II各孵育15分钟,无水乙醇I和II各孵育5分钟,95%乙醇、80%乙醇和70%乙醇依次各孵育5分钟,纯水水洗,浸泡3分钟*3次。

[0071] 3) 抗原修复:采用Tris-EDTA(pH9.0)修复液,高压修复3分钟,自然冷却,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0072] 4) 封闭剂封闭:过氧化物酶封闭剂孵育,进行内源性过氧化物酶的封闭;每张切片100微升试剂,常温孵育5分钟,PBST缓冲液清洗,浸泡3分钟*3次。

[0073] 5) 抗体孵育:黑素瘤组织切片分别孵育抗体S100和CD63,肺腺癌组织切片分别孵育抗体EMA和CD68,常温孵育50分钟,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0074] 6) 酶标羊抗鼠/兔聚合物溶液孵育:所有切片常规孵育20分钟,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0075] 7) 蓝染显色液孵育:每张组织切片滴加100微升的蓝染显色液,蓝染显色液由1ml的蓝染缓冲液滴加1滴的蓝染底物,混合均匀得到,现配现用。

[0076] 切片在常温下孵育8min,纯水清洗,浸泡3分钟*3次。

[0077] 8) 衬染:固红染色液孵育5分钟,纯水清洗,浸泡3分钟*3次。

[0078] 9) 水性封片胶封片。

[0079] 图7为S100在黑素瘤组织切片上的阳性结果图,在上述实验条件下,S100呈阳性表达,信号清晰可辨。图8为CD63在黑素瘤组织切片上的阳性结果图,在上述实验条件下,CD63呈阳性表达,信号清晰可辨。图9为EMA在肺腺癌组织切片上的阳性结果图,在上述实验条件下,EMA呈阳性表达,信号清晰可辨。图10为CD68在肺腺癌组织切片上的阳性结果图,在上述实验条件下,CD68呈阳性表达,信号清晰可辨。

[0080] 黑色素瘤组织免疫组化染色方法的对比例1

[0081] 本对比例中是某基于AP-RED显色系统的免疫组化检测试剂盒在黑素瘤组织上的试验。

[0082] 1) 取黑素瘤组织一个,制备石蜡组织切片4张,厚度为3微米,60℃烤片1个小时。

[0083] 2) 组织切片进行常规的脱蜡水化:二甲苯I和II各孵育15分钟,无水乙醇I和II各孵育5分钟,95%乙醇、80%乙醇和70%乙醇依次各孵育5分钟,纯水水洗,浸泡3分钟*3次。

[0084] 3) 抗原修复:采用Tris-EDTA(pH9.0)修复液,高压修复3分钟,自然冷却,PBST清

洗,浸泡3分钟*3次。

[0085] 4) 封闭剂封闭:过氧化物酶封闭剂孵育,常温孵育10分钟,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0086] 5) 抗体孵育:其中1号和2号切片孵育抗体HMB45,3号和4号切片孵育抗体MelanA,常温孵育120分钟,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0087] 6) AP标记的聚合物抗体:所有切片常规孵育30分钟,PBST清洗,浸泡3分钟*3次。

[0088] 7) FAST RED显色剂孵育:1号和3号切片常温孵育10分钟,2号和4号切片常温孵育30分钟,纯水清洗,浸泡3分钟*3次。

[0089] 8) 衬染:苏木素孵育3分钟,纯水清洗,浸泡3分钟*3次。

[0090] 9) 水性封片胶封片。

[0091] 图11和图12为HMB45的免疫组化试验显色效果,图13和图14为Melan A的免疫组化试验显色效果,图11和图13对应的孵育时间为10分钟,图12和图14对应的孵育时间为30分钟。其中,图11和图13染色结果弱,判读困难,图12和图14染色定位准确,显色为中强阳性,无明显背景染色,染色合格,但是整个实验流程周期太长。

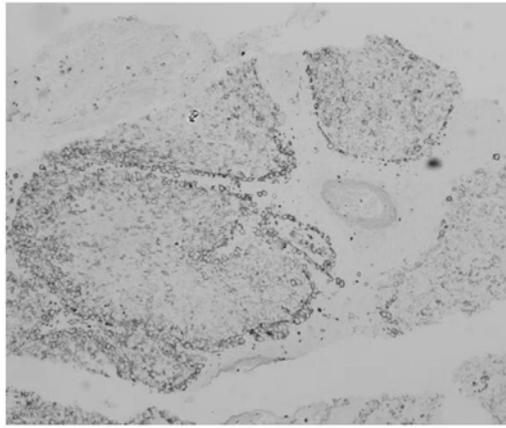


图1

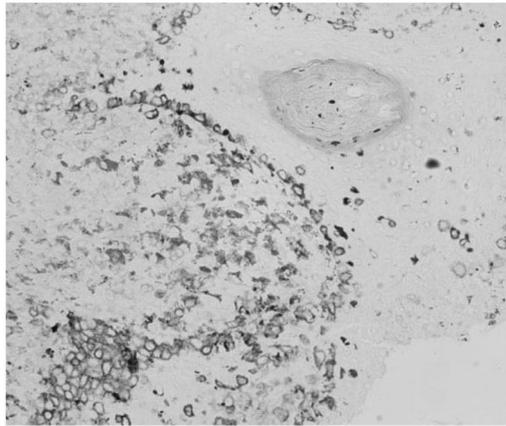


图2

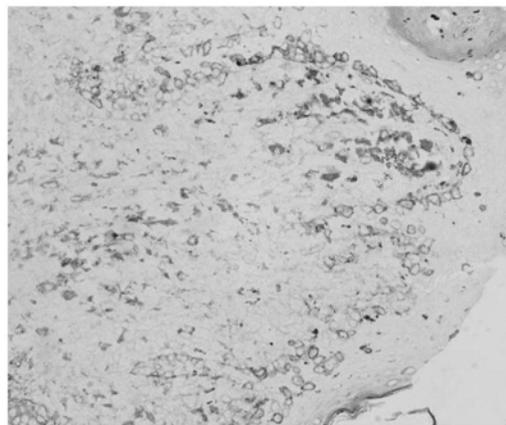


图3

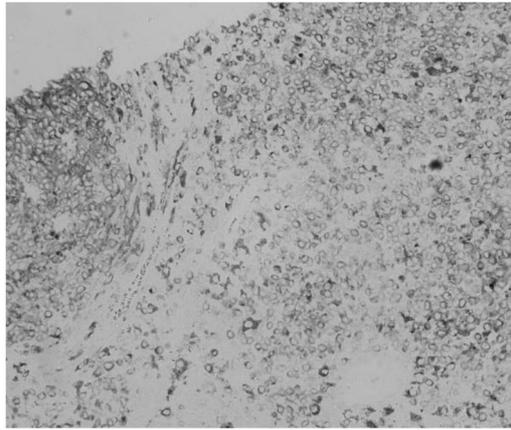


图4

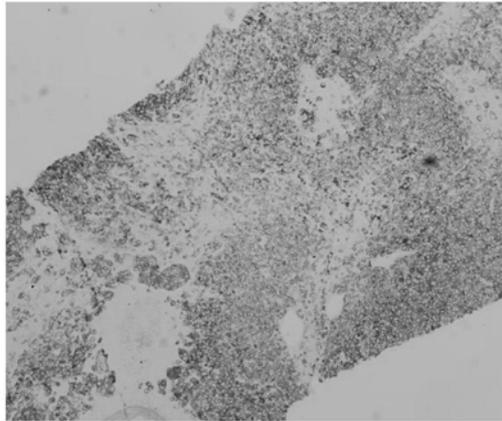


图5

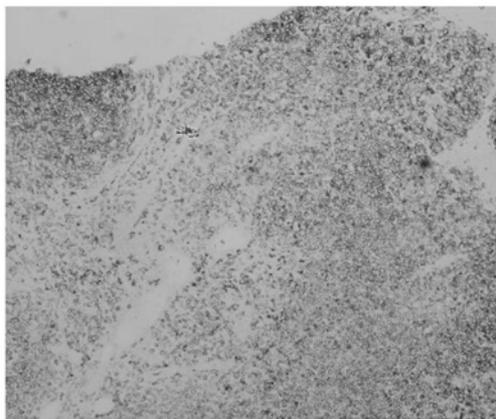


图6

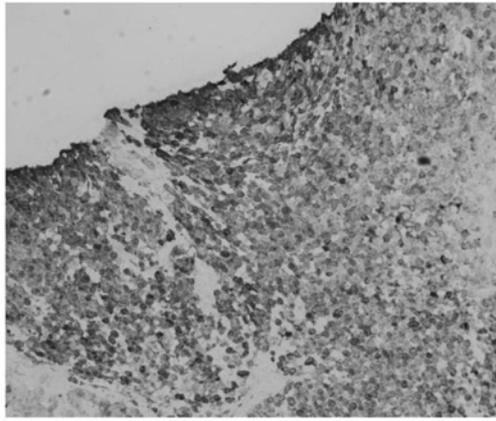


图7

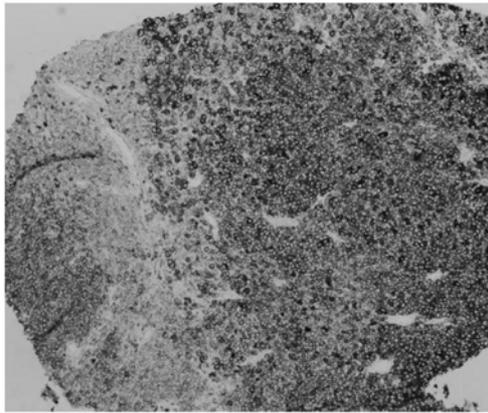


图8

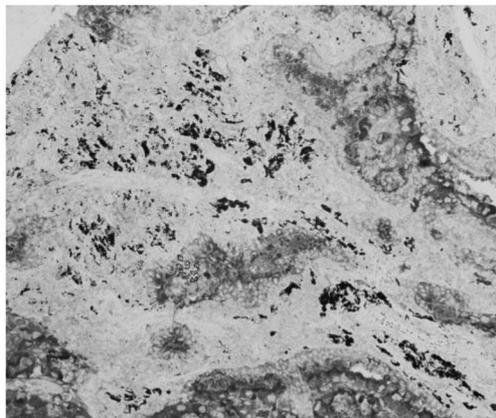


图9

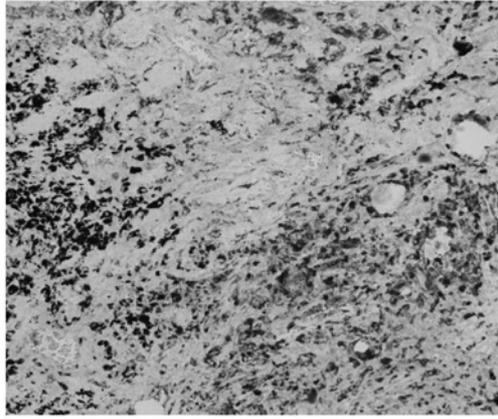


图10

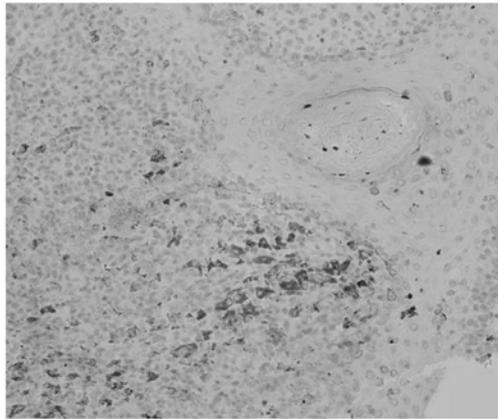


图11

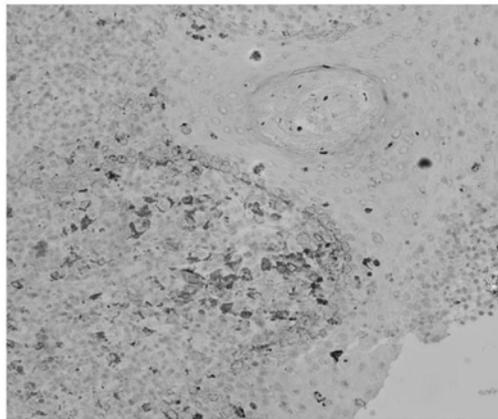


图12

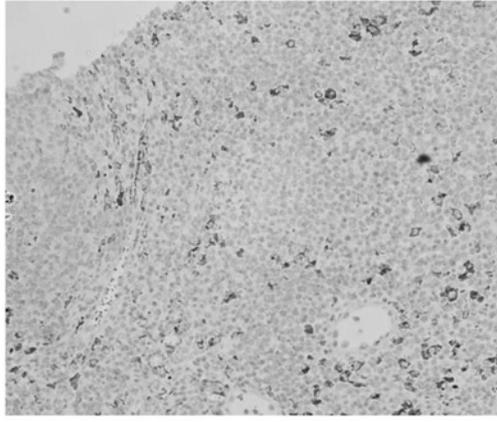


图13

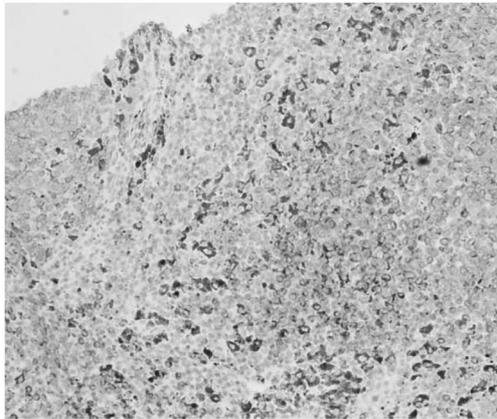


图14