



石蜡切片免疫组化实验报告

1. 实验器材及试剂

1.1. 实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	意大利迪佩斯 (DIPATH)	Donatello
包埋机	武汉俊杰电子有限公司	JB-P5
病理切片机	上海徠卡仪器有限公司	RM2016
冻台	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	浙江省金华市科迪仪器设备有限公司	KD-P
烤箱	上海慧泰仪器制造有限公司	DHG-9140A
载玻片	上海希柏徠生物科技有限公司	G6012
盖玻片	江苏世泰实验器材有限公司	10212432C
微波炉	格兰仕微波炉电器有限公司	P70D20TL-P4
脱色摇床(钟摆式)	上海希柏徠生物科技有限公司	DS-2S100
涡旋混匀仪	上海希柏徠生物科技有限公司	MV-100
掌上离心机	上海希柏徠生物科技有限公司	D1008E
移液枪	上海希柏徠生物科技有限公司	
组化笔	上海希柏徠生物科技有限公司	G6100
显微镜	尼康仪器有限公司	E100

1.2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	100092683
环保型脱蜡透明液	上海希柏徠生物科技有限公司	G1128
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023418
正丁醇	国药集团化学试剂有限公司	100052190
盐酸	国药集团化学试剂有限公司	10011028



希柏徠生物致力于组织原位多标分析技术，光谱成像，自动化采集及智能分析的全套解决方案！

地址:上海市奉贤区平庄西路1599号
电话:18062456473/18621529881

邮箱:maliwenlin@163.com
微信:XBL-FuHao



20×柠檬酸抗原修复液（pH 6.0）	上海希柏徕生物科技有限公司	G1202
20×Tris-EDTA 抗原修复液（pH 9.0）	上海希柏徕生物科技有限公司	G1203
20×Tris-EDTA 抗原修复液（pH 8.0）	上海希柏徕生物科技有限公司	G1206
PBS 缓冲液	上海希柏徕生物科技有限公司	G0002
通用型组织固定液（中性）	上海希柏徕生物科技有限公司	G1101
3%过氧化氢消毒液	安捷高科	
牛血清白蛋白 BSA	上海希柏徕生物科技有限公司	GC305010
正常兔血清（浓缩型）	上海希柏徕生物科技有限公司	G1209
苏木素染液	上海希柏徕生物科技有限公司	G1004
苏木素分化液	上海希柏徕生物科技有限公司	G1039
苏木素返蓝液	上海希柏徕生物科技有限公司	G1040
超净快干封片胶	上海希柏徕生物科技有限公司	G1404-100mL
组化试剂盒 DAB 显色剂	上海希柏徕生物科技有限公司	G1212

1.3. 抗体信息及修复条件

抗原修复条件	一抗名称	一抗货号	一抗厂家	一抗种属	一抗稀释比	对应的二抗名称

（备注：抗体加样顺序按照抗体书写顺序，二抗货号，厂家及稀释比见下方附表）

2. 实验步骤

2.1 石蜡切片脱蜡至水：依次将切片放入环保型脱蜡液I10min-环保型脱蜡液II10min-环保型脱蜡液III10min-无水乙醇I5min-无水乙醇II5min-无水乙醇III5min-蒸馏水洗。

2.2 抗原修复：修复见上表，此过程中应防止缓冲液过度蒸发，切勿干片。自然冷却后将玻片置于 PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。（修复液和修复条件根据组织来确定）

2.3 阻断内源性过氧化物酶：切片放入 3%双氧水溶液，室温避光孵育 25 min，将玻片置于 PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。

2.4 血清封闭：在组化圈内滴加 3%BSA 均匀覆盖组织，室温封闭 30min。（一抗是山羊来源的用兔血清封闭，其他来源的用 BSA 封闭）



希柏徕生物致力于组织原位多标分析技术，光谱成像，自动化采集及智能分析的全套解决方案！

地址：上海市奉贤区平庄西路1599号
电话：18062456473/18621529881

邮箱：maliwenlin@163.com
微信：XBL-FuHao



2.5 加一抗：轻轻甩掉封闭液，在切片上滴加 PBS 按一定比例配好的一抗，切片平放于湿盒内 4℃ 孵育过夜。

2.6 加二抗：玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗 (HRP 标记) 覆盖组织，室温孵育 50min。

2.7 DAB 显色：玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。切片稍甩干后在圈内滴加新鲜配制的 DAB 显色液，显微镜下控制显色时间，阳性为棕黄色，自来水冲洗切片终止显色。

2.8 复染细胞核：苏木素复染 3min 左右，自来水洗，苏木素分化液分化数秒，自来水冲洗，苏木素返蓝液返蓝，流水冲洗。

2.9 脱水封片：将切片依次放入 75%酒精 5min--85%酒精 5min --无水乙醇 I 5min --无水乙醇 II 5min--正丁醇 5min--二甲苯 I 5min 中脱水透明，将切片从二甲苯拿出来稍晾干，封片胶封片。

2.10 镜检：置于白光显微镜下进行结果判读。

3. 结果判读

苏木素染细胞核为蓝色，DAB 显出的阳性表达为棕黄色。

附表

二抗及 TSA 名称	货号	厂家	稀释比
CY3 标记山羊抗兔 IgG	GB21303	XBL	1:300
CY3 标记山羊抗小鼠 IgG	GB21301	XBL	1:300
CY3 标记山羊抗大鼠 IgG	GB21302	XBL	1:300
CY3 标记驴抗山羊 IgG	GB21404	XBL	1:300
CY3 标记驴抗小鼠 IgG	GB21401	XBL	1:300
CY3 标记驴抗兔 IgG	GB21403	XBL	1:300
Alexa Fluor 488 标记山羊抗兔 IgG	GB25303	XBL	1:400
Alexa Fluor 488 标记山羊抗小鼠 IgG	GB25301	XBL	1:400
CY5 标记山羊抗小鼠 IgG	GB27301	XBL	1:400
CY5 标记山羊抗兔 IgG	GB27303	XBL	1:400
HRP 标记的兔抗山羊 IgG	GB23204	XBL	1:200
HRP 标记山羊抗小鼠 IgG	GB23301	XBL	1:200
HRP 标记山羊抗大鼠 IgG	GB23302	XBL	1:200
HRP 标记山羊抗兔二抗	GB23303	XBL	1:200
HRP 标记驴抗山羊二抗	GB23404	XBL	1:200



希柏徕生物致力于组织原位多标分析技术，光谱成像，自动化采集及智能分析的全套解决方案！

地址：上海市奉贤区平庄西路1599号
电话：18062456473/18621529881

邮箱：maliwenlin@163.com
微信：XBL-FuHao



上海希柏徕生物科技有限公司

Shanghai Ciberlife Biotechnology Co., Ltd.

FITC 标记驴抗山羊 IgG	GB22404	XBL	1:200
FITC 标记山羊抗大鼠 IgG	GB22302	XBL	1:200
FITC 标记驴抗兔 IgG	GB22403	XBL	1:200
FITC 标记驴抗小鼠 IgG	GB22401	XBL	1:200
Alexa Fluor 594 标记山羊抗兔 IgG	111-585-003	Jackson	1:400
Alexa Fluor 594 标记山羊抗小鼠 IgG	115-585-003	Jackson	1:400
CY3-Tyramide	G1223	XBL	1:500
iF488-Tyramide	G1231	XBL	1:500
iF647-Tyramide	G1232	XBL	1:400
FITC-Tyramide	G1222	XBL	1:500

仅供科研用途，不可用于临床诊断！



希柏徕生物致力于组织原位多标分析技术，光谱成像，自动化采集及智能分析的全套解决方案！

地址:上海市奉贤区平庄西路1599号
电话:18062456473/18621529881

邮箱:maliwenlin@163.com
微信:XBL-FuHao