



细胞爬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
载玻片	上海希柏徕生物科技有限公司	X6012
盖玻片	江苏世泰实验器材有限公司	10212432C
脱色摇床(钟摆式)	上海希柏徕生物科技有限公司	XS-2S100
涡旋混匀仪	上海希柏徕生物科技有限公司	XV-100
掌上离心机	上海希柏徕生物科技有限公司	D1008E
移液枪	上海希柏徕生物科技有限公司	
组化笔	上海希柏徕生物科技有限公司	X6100
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
PBS 缓冲液	上海希柏徕生物科技有限公司	X0002
牛血清白蛋白 BSA	上海希柏徕生物科技有限公司	XC305010
正常兔血清(浓缩型)	上海希柏徕生物科技有限公司	X1209
破膜液	上海希柏徕生物科技有限公司	X1204
通用型组织固定液(中性)	上海希柏徕生物科技有限公司	X1101
苏木素染液	上海希柏徕生物科技有限公司	X1004
苏木素分化液	上海希柏徕生物科技有限公司	X1039
苏木素返蓝液	上海希柏徕生物科技有限公司	X1040
超净快干封片胶	上海希柏徕生物科技有限公司	X1404-100mL
组化试剂盒 DAB 显色剂	上海希柏徕生物科技有限公司	X1211

1.3. 抗体信息及修复条件



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



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 细胞固定: 爬片稍甩干后用组化笔在盖玻片中间细胞分布均匀的位置画圈 (防止抗体流走), 加 50-100 μ L 固定工作液, 室温孵育 20min, PBS 洗 3 次, 每次 5 min。

2.2 加一抗: 轻轻甩掉封闭液, 在细胞孔板里滴加 PBS 按一定比例配好的一抗, 1. 细胞培养板平放于湿盒内 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。

2.3 加二抗: 细胞孔板置于脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5min。稍甩干后在圈内滴加组化试剂盒内与一抗相应种属的二抗 (HRP 标记) 覆盖组织, 室温孵育 50min。

2.4 DAB 显色: 细胞孔板置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5min。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。

2.5 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。

2.6 脱水封片: 将玻片依次放入 75%酒精 5min--85%酒精 5min --无水乙醇 I 5min --无水乙醇 II 5min 中脱水, 将玻片从酒精中拿出来吹风机吹干后将有细胞的一面朝下用中性树胶封固在载玻片上。

2.7 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 显出来的阳性细胞为棕黄色。

附表

二抗及 TSA 名称	货号	厂家	稀释比
CY3 标记山羊抗兔 IgG	XB21303	XBL	1:300
CY3 标记山羊抗小鼠 IgG	XB21301	XBL	1:300
CY3 标记山羊抗大鼠 IgG	XB21302	XBL	1:300



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.

CY3 标记驴抗山羊 IgG	XB21404	XBL	1:300
CY3 标记驴抗小鼠 IgG	XB21401	XBL	1:300
CY3 标记驴抗兔 IgG	XB21403	XBL	1:300
Alexa Fluor 488 标记山羊抗兔 IgG	XB25303	XBL	1:400
Alexa Fluor 488 标记山羊抗小鼠 IgG	XB25301	XBL	1:400
CY5 标记山羊抗小鼠 IgG	XB27301	XBL	1:400
CY5 标记山羊抗兔 IgG	XB27303	XBL	1:400
HRP 标记的兔抗山羊 IgG	XB23204	XBL	1:200
HRP 标记山羊抗小鼠 IgG	XB23301	XBL	1:200
HRP 标记山羊抗大鼠 IgG	XB23302	XBL	1:200
HRP 标记山羊抗兔二抗	XB23303	XBL	1:200
HRP 标记驴抗山羊二抗	XB23404	XBL	1:200
FITC 标记驴抗山羊 IgG	XB22404	XBL	1:200
FITC 标记山羊抗大鼠 IgG	XB22302	XBL	1:200
FITC 标记驴抗兔 IgG	XB22403	XBL	1:200
FITC 标记驴抗小鼠 IgG	XB22401	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	X1223	XBL	1:500
iF488-Tyramide	X1231	XBL	1:500
iF647-Tyramide	X1232	XBL	1:400
FITC-Tyramide	X1222	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