

免疫组织化学技术 (immunohistochemistry)

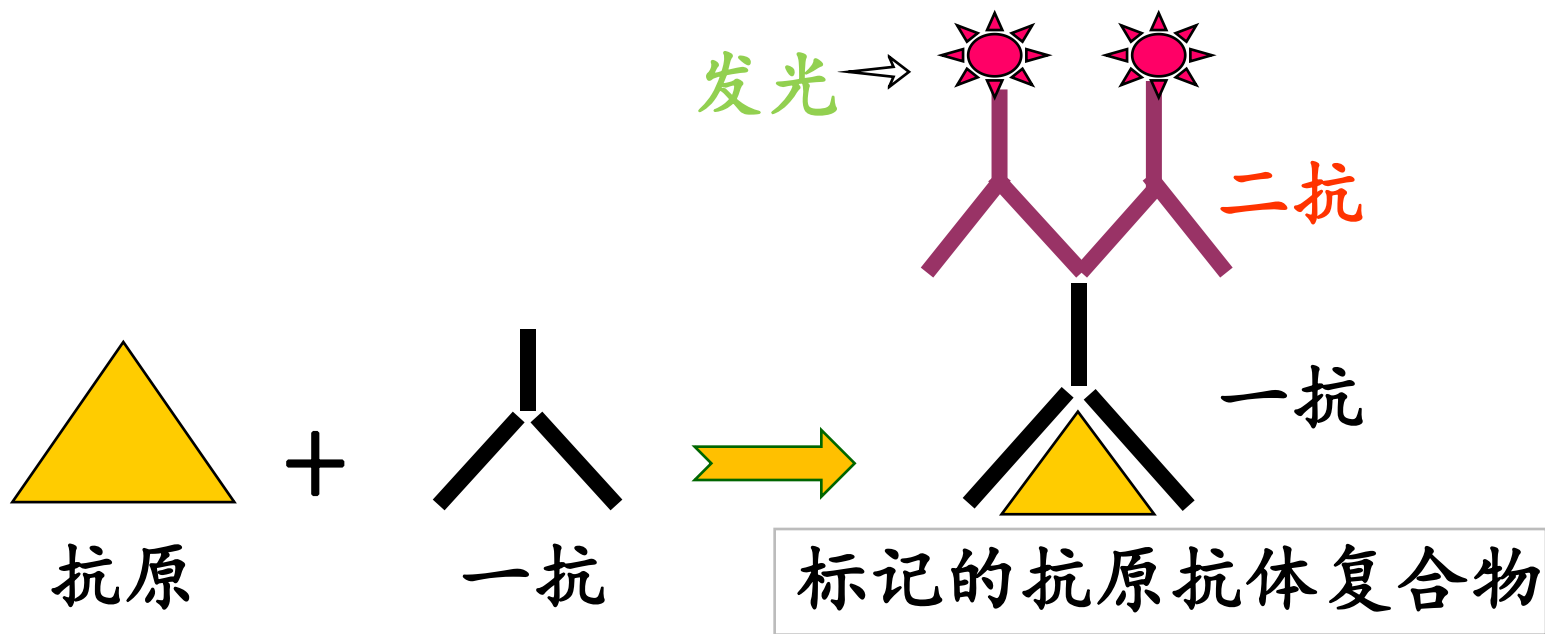
科研实验中心

目 录

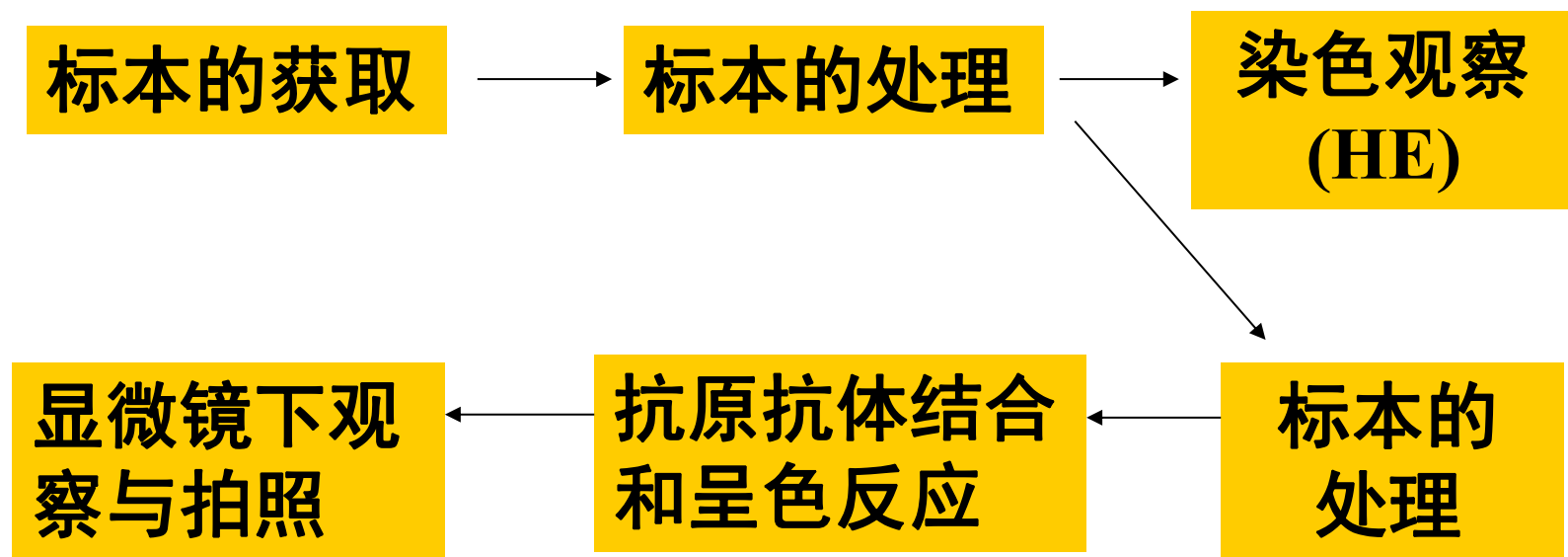
1. 基本概念及原理
2. 免疫组化全过程
3. 免疫组化结果分析
4. 注意事项及常见问题
5. 免疫组化应用
6. 中心提供的试剂耗材

1、基本概念及原理

免疫组化 指在组织细胞原位通过**抗原抗体反应**和**呈色反应**，借助可见的标记物，对相应的抗原或抗体进行定位、定性和定量检测的一种免疫检测方法



2、免疫组化基本过程



2.1 常用样品来源



2.2 常用固定剂

- ◎ 10%福尔马林
- ◎ 4%多聚甲醛（组织在肝素盐水充分冲洗后应用4C°保存的4%多聚甲醛灌注）
- ◎ 丙酮：用于冰冻切片、细胞涂片

2.3 组织脱水、浸蜡及包埋

- ✓ 脱水剂：乙醇（梯度） **定期更换**
- ✓ 透明剂：二甲苯
- ✓ 包埋剂：石蜡、OCT（冰冻切片）

包埋机



全自动脱水机

2.4 切片

1. 石蜡切片

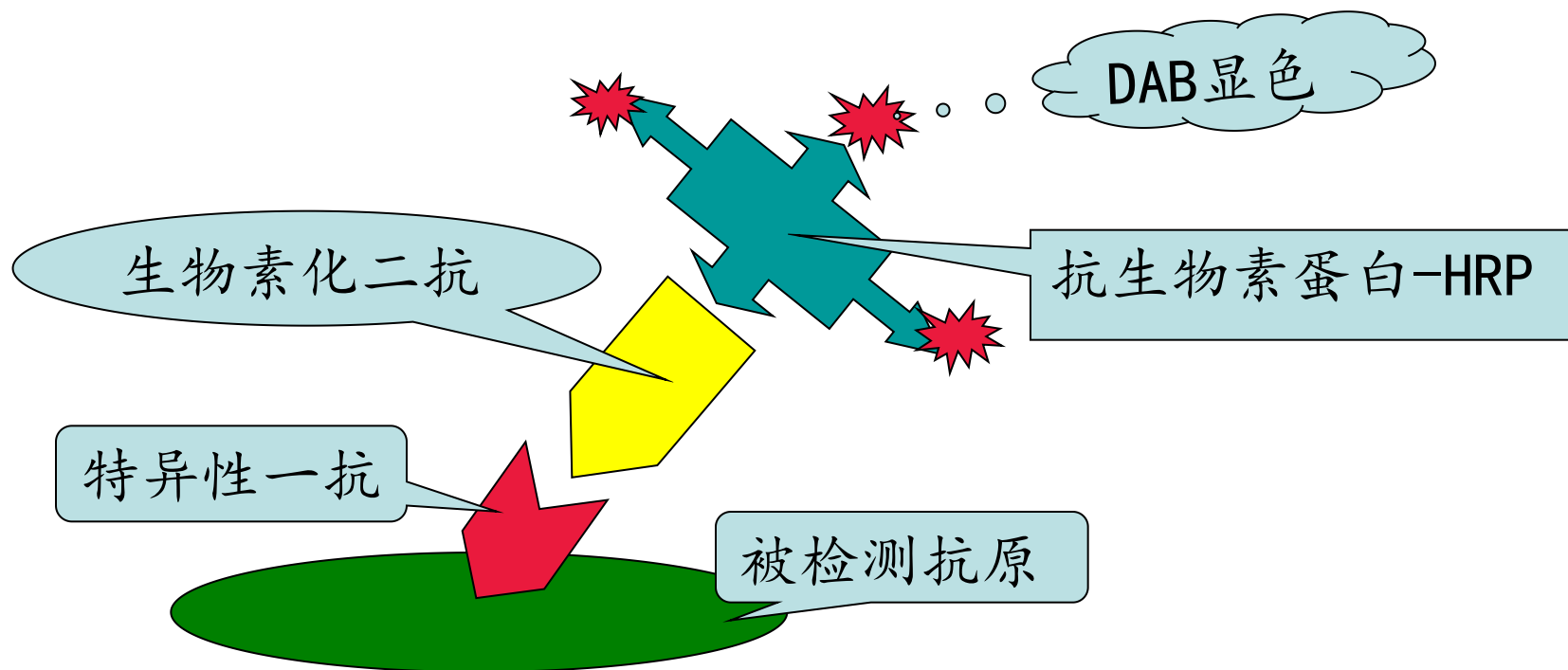


2. 冰冻切片



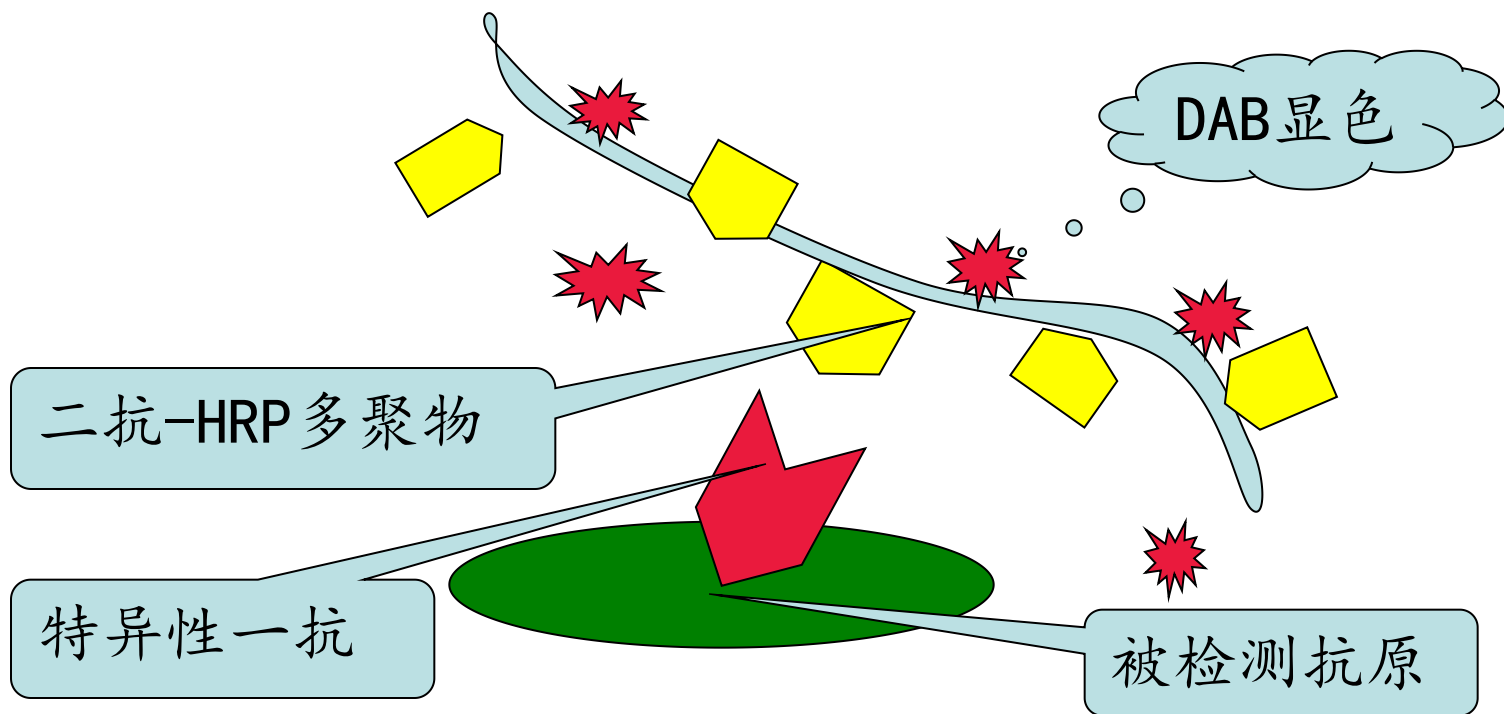
2.5 常用免疫组化试剂盒方法

➤ SP法（三步法）



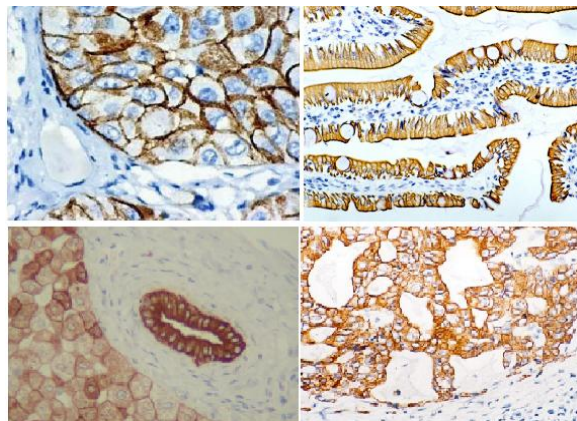
2.5 常用免疫组化试剂盒方法

➤ Elivision法（二步法）✓



3、免疫组化结果分析

拍照/扫描 { 定性
 定位
 半定量



目 录

1. 基本概念及原理
2. 免疫组化基本过程
3. 免疫组化结果分析
4. 注意事项及常见问题
5. 免疫组化应用
6. 中心提供的试剂耗材

4.1 实验过程中注意事项

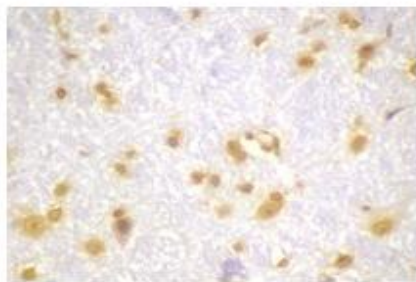
1. 组织取材后要及时处理，一般30min内浸入固定液。
2. 包埋及切片时都需要编上号。
3. 选择合适抗原修复方式，过程中防脱片。

蛋白酶、微波、煮沸

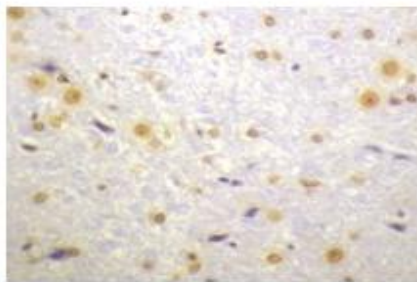
4. 做预实验，抗体浓度及试剂孵育时间都要摸索。
5. 从滴加一抗以后每个步骤切片均不能干涸。
6. 对照组一定要设立好。

4.2 免疫组化常见问题

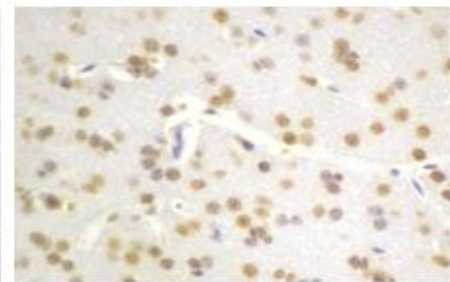
➤ 假阳性



实验组



阴性对照



阳性对照

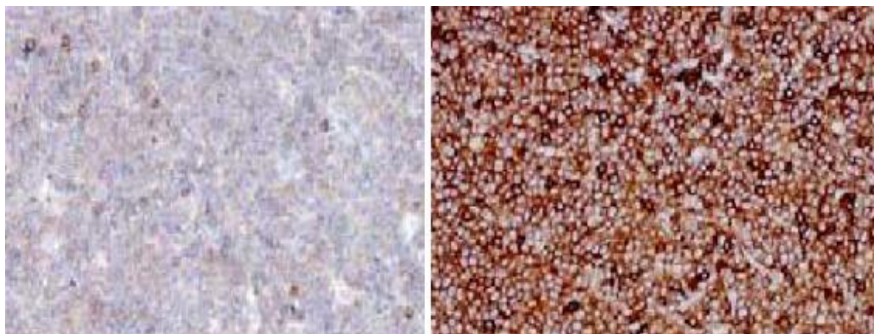
原因：内源性干扰、试剂不纯、交叉反应等

➤ 假阴性

原因：操作步骤错误、组织中无抗原、抗体错误等

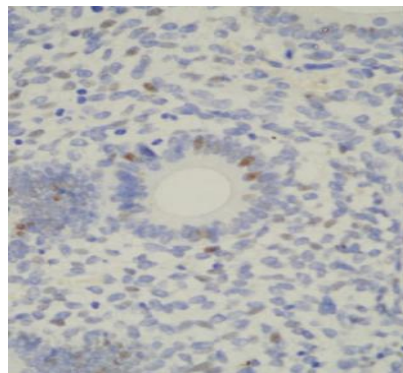
4.2 免疫组化常见问题

➤ 染色弱

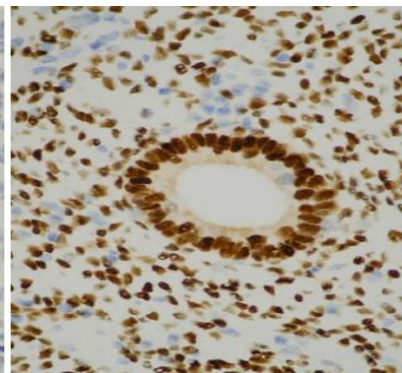


一抗浓度低

着色正常



修复不足



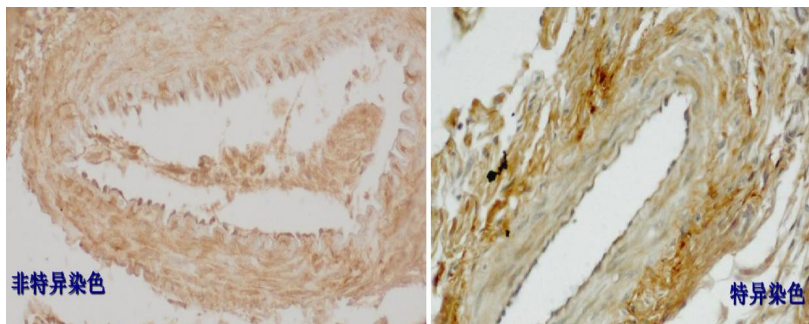
修复良好

其它：试剂是否新鲜、温度、操作等

4.2 免疫组化常见问题

➤ 非特异性背景染色

原因：冲洗不充分、内源性干扰、试剂污染等



非特异性

特异性

5、免疫组化应用

- 用途：

对目的蛋白进行定性、定位和定量分析。

- 优点：能够明确目的蛋白的细胞定位、亚细胞定位及多种蛋白之间的相互位置关系。

- 局限性：敏感性差，蛋白定量效果差。

6、中心提供的试剂耗材

一般耗材：剪刀、镊子、毛笔、一次性包埋夹、不锈钢包埋盒等。

☆ 刀片、载玻片、盖玻片须自备

常用试剂：中性福尔马林、乙醇、二甲苯、石蜡、苏木精、伊红、中性树脂。

☆ 抗体、试剂盒及DAB显色液等须自备

谢谢！

地址：综合楼26楼2606室

实验室责任人：陈冠军

电话：65167385 / 13866702882