

免疫组化免疫荧光样本准备及要求

免疫组化免疫荧光实验目的：通过抗原抗体的显色反应来确定组织细胞内抗原（多肽和蛋白质），对其进行定位、定性及相对定量的研究。

实验项目	标本要求	标本保存运输条件	可能存在的风险	建议
石蜡切片	客户提供石蜡切片的,该切片放置时间不能超过半年	常温	放置超过了半年的石蜡切片存在抗原丢失的可能性,结果可能为阴性或阳性较低	如果有蜡块最好提供蜡块重新切片
冰冻切片	1.厚度不要超过 10um。 2.提供的冰冻切片放置时间不能超过三个月	-20℃	1.20um 厚的冰冻切片,很容易掉片。 2、20um 厚的冰冻切片抗体不易进入导致假阴性结果 3.放置超过三个月的冰冻切片,抗原丢失很严重。	1.提供组织样品改做石蜡切片或者重新冰冻切片 8-10um。 2.放置超过三个月的切片建议重新切片
细胞爬片	1.细胞密度合适(最好是 10^5),状态要好。 2.最好爬在 24*24 的爬片上,不要把细胞直接爬在板子上,组化不接 12 孔板或者孔径更小的培养板	4℃,只要不是一定要 做活细胞的项目,建议固定好细胞,换成 PBS 运输。	爬片操作过程中,细胞不可避免的会有少数脱落。如果原本细胞数量就少,那么做完后,可能会发现细胞没了。	1.放了超过一个星期的细胞爬片,可能长菌,建议不接。细胞爬片一次性做完,保存不超过一周。 2. 2.细胞数量: 6 孔板细胞密度到达 50%~70%,细胞量太少的爬片不要接。3.细胞没有制成爬片,直接爬在板子上的,不能封片拍照。
细胞悬浮液,做滴片	细胞固定好,换成 PBS,离心后要保证细胞沉淀至	把细胞悬浮液用 EP 管装着,	有的客户提供的细胞量太少,离心后,看不到明显沉淀,滴片制好后,发现没细胞	离心后需肉眼可见细胞沉淀

	少肉眼可见	4℃保存 运输		
做活细胞的特殊染色： 1、ROS (活性氧) 2.MTR (线粒体) 3.JC-1 (线粒体膜电位)	新鲜或冷冻组织冰冻切片或活细胞	冰冻切片-20℃保存。如果要做活细胞染色，则提供瓶装细胞，给我们公司细胞房培养，制成爬片。	活细胞实验操作过程中可能会脱落，尤其是做过药物或损伤等处理的细胞脱落更严重，实验结果可能存在细胞较少的情况	在我司培养细胞及处理
4.FJB (染坏死神经元) 5.WGA (染心肌细胞膜) 6.硫磺素 (染淀粉样蛋白)	石蜡切片 或冰切切片	石蜡切片常温保存。冰冻切片-20℃保存。	FJB 染坏死神经元，硫磺素染淀粉样蛋白，这两种染色都对标本造模有要求。模型不符合要求的，可能染不出来。	
7.BODIPY (脂滴荧光染色)	冰冻切片和细胞爬片都可以做。	按照冰冻切片和细胞爬片的条件即可。		
8.鬼笔环肽 (细胞骨架染色)	只能做细胞爬片	固定好细胞，换成 PBS，4℃运输到实验室。		

9.Hochest (细胞核染色)	石蜡切片,冰冻切片,细胞爬片,都能做。		BRDU,EDU 检测之前需动物活体注射化学试剂 brdu 或 edu , 细胞需用化学试剂 brdu 或 edu 处理造模, 否则无阳性。	
10.EDU (细胞增殖检测)				
11.BRDU (细胞增殖检测)				