

湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司
武汉长衍病理科技有限公司

WGA 染色实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

| 名称 | 厂家 | 型号 |
|-------|----------------------|------------------------|
| 脱水机 | 常州市中威电子仪器有限公司 | TSJ-SD |
| 包埋机 | 常州市中威电子仪器有限公司 | BMJ-A |
| 病理切片机 | 赛默飞世尔科技有限公司 | SHANDON FINESSE 325 |
| 冻台 | 武汉俊杰电子有限公司 | JB-L5 |
| 组织摊片机 | 常州市中威电子仪器有限公司 | PHY-III |
| 防脱载玻片 | 湖北百奥斯生物科技有限公司 | BP0510 |
| 荧光显微镜 | 奥林巴斯有限公司 | BX53 |
| 成像系统 | 3D HISTECH | Pannoramic SCAN II |
| 移液枪 | 大龙兴创实验仪器(北京)股份公 司 | YE169AA0033229 |
| 组化笔 | 福州迈新生物技术开发有限公司 | PEN-0002 |

2、主要试剂及货号

| 名称 | 厂家 | 货号 |
|--------------------------|------------------|------------|
| 无水乙醇 | 国药集团化学试剂有限公司 | 100092683 |
| 环保透明剂 | 同声科技 | |
| 10× 柠檬酸抗原修 复液 (pH6.0) | 湖北百奥斯生物科技有限公司 | |
| TBS 缓冲盐粉 | 湖北百奥斯生物科技有限公司 | BP0152 |
| WGA | SigmaAldrich | L4895-10MG |
| DAPI 溶液 | Solarbio | C0060 |
| 抗荧光淬灭封片剂 | Southern Biotech | 0100-01 |

湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司
武汉长衍病理科技有限公司

二、实验步骤

- 1、石蜡切片脱蜡至水：**依次于环保脱蜡剂(1)、环保脱蜡剂(2)、环保脱蜡剂(3)中分别脱蜡 10 分钟，然后经无水乙醇、95%乙醇、75%乙醇各 5 分钟。蒸馏水洗 3 次，每次 3 分钟，然后浸洗。
- 2、抗原修复：**在高压锅中加入柠檬酸 (pH6.0) 抗原修复液，修复液的体积应浸过切片。虚盖盖子放电磁炉上加热至沸腾 (电磁炉为 2100 瓦)。将脱蜡水化后的组织切片放入已沸腾的缓冲液中，盖紧盖子，稍停等气嘴顶起，加限压阀 (调整电磁炉功率为 1200 瓦)，待高压锅喷气后严格计时 2 分钟，然后停火。冷水冲淋高压锅，气压下降后打开锅盖，待修复液自然冷却至室温 (25-30℃，约 1 小时) 后，将切片从修复液中取出，蒸馏水浸洗 3 次，每次 5 分钟。
- 3、画圈：**组化笔画圈后，将切片置于 TBST 中。
- 4、WGA 染色：**将 WGA 原液按 1:200 比例，用 TBST 稀释配制成 WGA 工作液，每张切片滴加 50-100 μ l (视组织大小而定) WGA 工作液，室温避光孵育 30 分钟。孵育后用 TBST 浸洗 3 次，每次 5 分钟。
- 5、染核：**除去 TBST，每张切片滴加 50-100 μ l (视组织大小而定) DAPI 工作液 (用 DAPI 原液 1:500 配制)，避光染核 5 分钟后，用 TBST 冲洗。
- 6、封片：**用抗荧光淬灭封片剂封片，4℃避光保存。
- 7、镜检：**显微镜下镜检，图像采集分析。

三、结果判读

DAPI 通道细胞核为蓝色，488 通道细胞膜呈绿色。