

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103115812 A

(43) 申请公布日 2013. 05. 22

(21) 申请号 201310022665. 8

(22) 申请日 2013. 01. 22

(71) 申请人 安徽农业大学

地址 230036 安徽省合肥市长江西路 130 号

(72) 发明人 蒲勇 刘晓蕊 刘亚 曹鸿国

张运海 方富贵 李运生 卞雅妮

王张凡 张飞 杨盼

(51) Int. Cl.

G01N 1/31 (2006. 01)

G01N 33/533 (2006. 01)

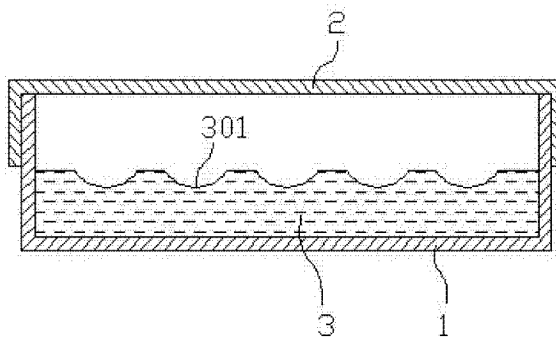
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

胚胎免疫荧光染色操作皿及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了胚胎免疫荧光染色操作皿及其制备方法。胚胎免疫荧光染色操作皿包括操作皿和以琼脂糖凝胶制成的底衬；底衬贴附在操作皿的内腔底面，底衬上表面设有凹坑。其中，凹坑为半圆形。制备方法是(1)将设有半圆形凸起的模具固定在培养皿的上盖内腔的顶面；(2)用琼脂糖粉末与水或 DPBS/PBS 溶液制成琼脂糖凝胶；(3)将琼脂糖凝胶倒入培养皿，使模具上的半圆形凸起与琼脂糖凝胶的液面接触；(4)待琼脂糖凝胶凝固后取下模具，即可使用；也可盖上盖子封好后 4℃ 保存待用。本发明在组织培养皿中设置以琼脂糖凝胶制成底衬，使得胚胎免疫荧光染色操作直接在底衬上完成，避免了操作中胚胎与组织培养皿板壁发生直接接触而产生的粘连、变形、移位和窜孔等问题。



1. 胚胎免疫荧光染色操作皿,包括操作皿本体,其特征在于:还包括以琼脂糖凝胶制成的底衬;所述底衬贴附在操作皿的内腔底面,底衬上表面设有凹坑。

2. 根据权利要求1所述的胚胎免疫荧光染色操作皿,其特征在于:所述凹坑为半圆形。

3. 根据权利要求1或2所述的制备方法,其特征在于:所述琼脂糖凝胶是以100毫升水或DPBS/PBS溶液中溶解5克琼脂糖粉末制成的。

4. 根据权利要求1所述的胚胎免疫荧光染色操作皿的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:

(1) 将设有半圆形凸起的模具固定在培养皿的上盖内腔的顶面,且模具的半圆形凸起朝下;

(2) 用琼脂糖粉末与水或DPBS/PBS溶液制成琼脂糖凝胶;

(3) 将琼脂糖凝胶倒入培养皿,盖上带有模具的上盖,使模具上的半圆形凸起与琼脂糖凝胶的液面接触,等待琼脂糖凝胶凝固;

(4) 待琼脂糖凝胶凝固后将上盖揭开,并取下模具,即可使用;也可盖上盖子封好后4℃保存待用。

5. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述琼脂糖凝胶是以100毫升水或DPBS/PBS溶液中溶解5克琼脂糖粉末制成的。

胚胎免疫荧光染色操作皿及其制备方法

[0001]

技术领域

[0002] 本发明涉及实验操作器皿,尤其涉及一种胚胎免疫荧光染色操作皿及其制备方法。

背景技术

[0003] 免疫荧光显示和检查细胞或组织内抗原或半抗原物质等的方法称为免疫荧光细胞(或组织)化学技术。免疫荧光染色因其具有特异性强、敏感性高、操作周期短的特点,目前已经成为科学研究中最常用的技术之一。动物胚胎是细胞生物学,生殖生物学,发育生物学及胚胎工程的主要研究对象,且多种参与细胞周期调控和细胞信号转导的蛋白质和转录因子都在胚胎上呈时空特异性分布,因此,对胚胎内相关蛋白的准确定位及定性和定量检测对于生物学研究有着重大的意义。

[0004] 一、经固定后的胚胎容易与染色载体发生粘连。有些蛋白定位于核内、要制作高质量的染色图片必须将透明带脱去后再进行染色操作。脱去透明带后的胚胎,极易与染色载体粘连,在与载体分离过程中会导致胚胎样本形态结构的损坏和胚胎样本的丢失。

[0005] 二、免疫荧光染色均在组织培养皿中进行、每个皿内会制作多个液滴,一旦用力不当或是遇到外力,制作的液滴就会因表面张力较小发生移位、定形、或与其他液滴混合,导致组间样本和操作液滴之间的互混,进而导致实验的失败。极大的降低了实验成功率,严重影响了实验效率,给科研工作者带来了极大的不便。

[0006] 三、Triton X-100 会使通透液无法形成液滴,固通透需在小孔径的组织培养皿中进行(如,四孔板,但相对于自然形成的液滴,直径仍较大),极大的增加了通透液使用量。

[0007] 目前,针对不便一,常用的解决方案是增大样本量和实验重复次数。

[0008] 针对不便二,常用的解决方案是增加组织培养皿数,不同操作液滴和组间样本分开进行染色操作。极大的增大了科研工作量和实验成本。

[0009] 针对不便三,常用的解决方案是将通透步骤于四孔板中操作。

发明内容

[0010] 本发明要解决的技术问题是提供一种具有不粘连,易操作,易保存,成本低廉,用于胚胎免疫荧光染色的操作皿。

[0011] 本发明要解决的另外一个技术问题是提供一种胚胎免疫荧光染色操作皿的制备方法。

[0012] 对于胚胎免疫荧光染色操作皿,本发明采用的技术方案是:胚胎免疫荧光染色操作皿,包括操作皿本体,还包括以琼脂糖凝胶制成的底衬;底衬贴附在操作皿的内腔底面,底衬上表面设有凹坑。

[0013] 作为优选,凹坑为半圆形。

[0014] 作为优选,琼脂糖凝胶是以 100 毫升水或 DPBS/PBS 溶液中溶解 5 克琼脂糖粉末制成的。

[0015] 对于胚胎免疫荧光染色操作皿的制备方法,本发明采用的技术方案是:包括以下步骤:

(1) 将设有半圆形凸起的模具固定在培养皿的上盖内腔的顶面,且模具的半圆形凸起朝下;

(2) 用琼脂糖粉末与水或 DPBS/PBS 溶液制成琼脂糖凝胶;

(3) 将琼脂糖凝胶倒入培养皿,盖上带有模具的上盖,使模具上的半圆形凸起与琼脂糖凝胶的液面接触,等待琼脂糖凝胶凝固;

(4) 待琼脂糖凝胶凝固后将上盖揭开,并取下模具,即可使用;也可盖上盖子封好后 4℃ 保存待用。

[0016] 作为优选,琼脂糖凝胶是以 100 毫升水或 DPBS/PBS 溶液中溶解 5 克琼脂糖粉末制成的。

[0017] 本发明的有益效果是:

将用琼脂糖凝胶制成的底衬贴附在组织培养皿底面构成胚胎免疫荧光染色操作皿。因琼脂糖凝胶表面光滑,粘附力小,在加入液滴后,动物胚胎与琼脂糖凝胶表面完全不会发生粘连;在琼脂糖凝胶设有凹坑,使得液滴不会发生变形、移位和窜孔。该胚胎免疫荧光染色操作皿既利于操作,又方便保存。

附图说明

[0018] 下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0019] 图 1 是本发明胚胎免疫荧光染色操作皿实施例的制成结构示意图。

[0020] 图 2 是本发明胚胎免疫荧光染色操作皿实施例的制作结构示意图。

[0021] 图中,1- 操作皿,2- 上盖,3- 底衬,301- 凹坑,4- 模具,401- 凸起。

具体实施方式

[0022] 图 1 是胚胎免疫荧光染色操作皿,由操作皿 1、上盖 2 和底衬 3 组成。底衬 3 附在操作皿 1 的内腔底面,底衬 3 的表面设有半圆形的凹坑 301,底衬 3 是用琼脂糖凝胶制成的。

[0023] 图 2 是上述胚胎免疫荧光染色操作皿的制作结构示意图。其制备方法如下:

(1) 先将设有多个半圆形凸起 401 的模具 4 固定在培养皿 1 的上盖 2 内腔的顶面,使模具 4 的半圆形凸起 401 朝下;

(2) 用琼脂糖粉末与水或 DPBS/PBS 溶液制成琼脂糖凝胶,即在每 100 毫升水或 DPBS/PBS 溶液中溶解 5 克琼脂糖粉末;

(3) 将琼脂糖凝胶倒入培养皿,盖上带有模具的上盖,使模具上的半圆形凸起 401 与琼脂糖凝胶的液面接触,等待琼脂糖凝胶凝固;

(4) 待琼脂糖凝胶凝固后形成底衬 3,将上盖揭开,并取下模具,即可使用;也可盖上盖子封好后 4℃ 保存待用。

[0024] 琼脂糖具有强疏水性,几乎完全不带带电基团,对敏感的生物大分子极少引起变性和吸附,是理想的惰性载体。琼脂糖凝胶对样品(哺乳动物胚胎)的吸附性很小。琼脂糖

在水中一般加热到 90℃ 以上溶解, 温度下降到 35-40℃ 时形成良好的半固体状的凝胶, 这是它具有多种用途的主要特征和基础。琼脂糖凝胶具有一定渗透性, 浓度越大, 分子间隙越小, 渗透性越小, 操作过程中液体损失就越少。

[0025] 实验证明, 每 100 毫升水中溶解 5 克琼脂糖粉末所制成琼脂糖凝胶的密度效果最佳。

[0026] 制作时, 通过模具 4 的结构设计可以决定培养皿内琼脂糖凝胶所形成的底衬上的孔数、孔径、孔的深度。模具 4 用药品铝塑泡罩包装材料制成。

[0027] 将制作的胚胎免疫荧光染色操作皿, 加盖后通过封口膜密封, 既可以防止水分的蒸发又便于携带与保存。另外, 如果在制好的模具上喷洒适量缓冲液(如 PBS 和 DPBS)后再密封, 存于冰箱(4℃), 能够长期保存。

[0028] 本实施例在组织培养皿中设置以琼脂糖凝胶制成底衬, 使得胚胎免疫荧光染色操作直接在底衬上完成, 避免了操作中胚胎与组织培养皿板壁发生直接接触而产生的粘连、变形、移位和窜孔等问题。

[0029] 以上所述的本发明实施方式, 并不构成对本发明保护范围的限定。任何在本发明的精神和原则之内所作的修改、等同替换和改进等, 均应包含在本发明的权利要求保护范围之内。

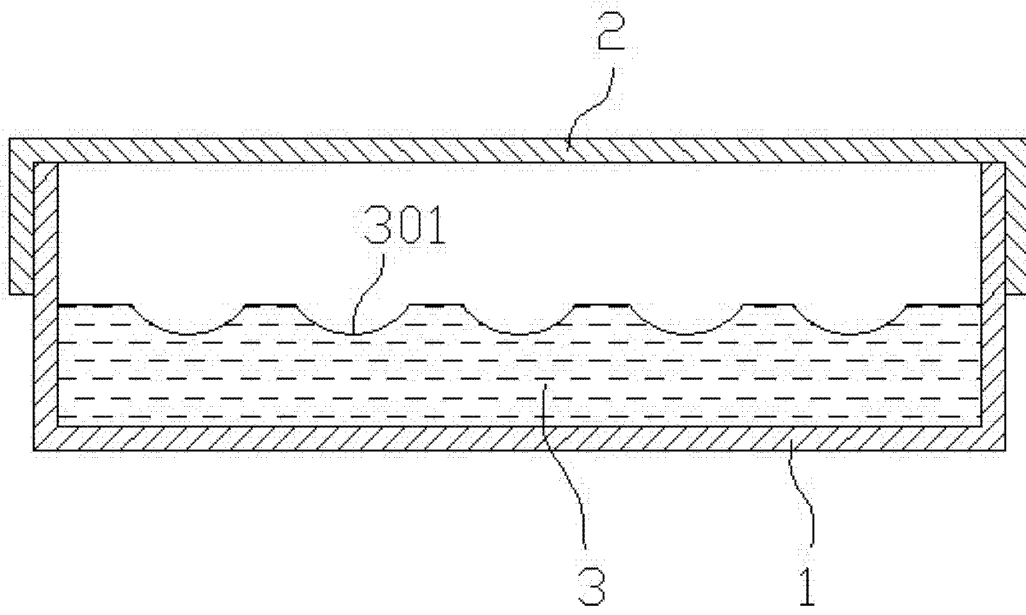


图 1

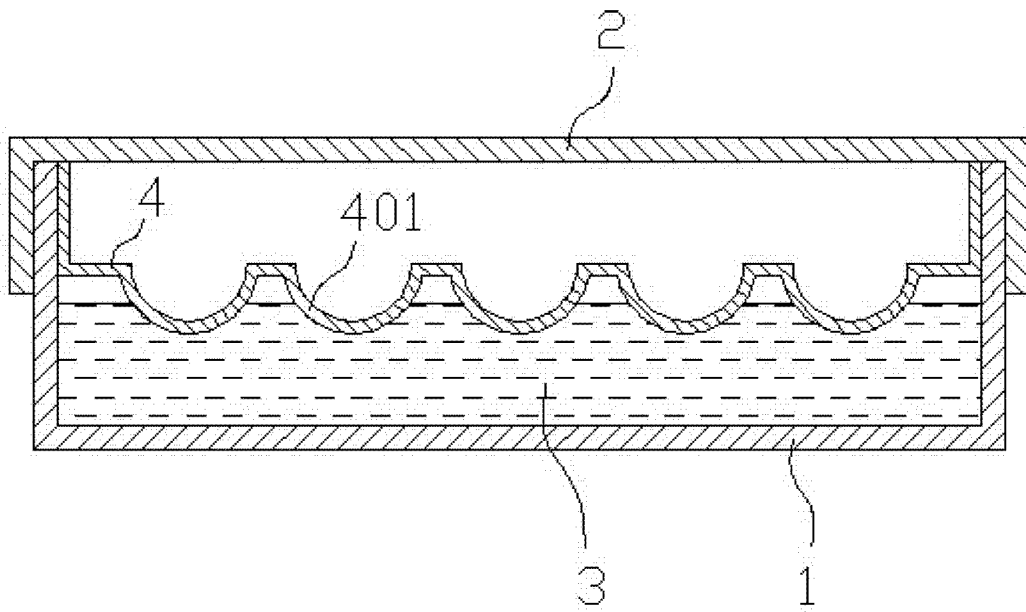


图 2

专利名称(译)	胚胎免疫荧光染色操作皿及其制备方法		
公开(公告)号	CN103115812A	公开(公告)日	2013-05-22
申请号	CN201310022665.8	申请日	2013-01-22
[标]申请(专利权)人(译)	安徽农业大学		
申请(专利权)人(译)	安徽农业大学		
当前申请(专利权)人(译)	安徽农业大学		
[标]发明人	蒲勇 刘晓蕊 刘亚 曹鸿国 张运海 方富贵 李运生 卞雅妮 王张凡 张飞 杨盼		
发明人	蒲勇 刘晓蕊 刘亚 曹鸿国 张运海 方富贵 李运生 卞雅妮 王张凡 张飞 杨盼		
IPC分类号	G01N1/31 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了胚胎免疫荧光染色操作皿及其制备方法。胚胎免疫荧光染色操作皿包括操作皿和以琼脂糖凝胶制成的底衬；底衬贴附在操作皿的内腔底面，底衬上表面设有凹坑。其中，凹坑为半圆形。制备方法是（1）将设有半圆形凸起的模具固定在培养皿的上盖内腔的顶面；（2）用琼脂糖粉末与水或DPBS/PBS溶液制成琼脂糖凝胶；（3）将琼脂糖凝胶倒入培养皿，使模具上的半圆形凸起与琼脂糖凝胶的液面接触；（4）待琼脂糖凝胶凝固后取下模具，即可使用；也可盖上盖子封好后4℃保存待用。本发明在组织培养皿中设置以琼脂糖凝胶制成底衬，使得胚胎免疫荧光染色操作直接在底衬上完成，避免了操作中胚胎与组织培养皿板壁发生直接接触而产生的粘连、变形、移位和穿孔等问题。

