



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110763661 A

(43)申请公布日 2020.02.07

(21)申请号 201810824763.6

(22)申请日 2018.07.25

(71)申请人 中国科学院合肥物质科学研究院
地址 230031 安徽省合肥市蜀山区蜀山湖
路350号

(72)发明人 钟凯 徐金勇 汪增荣

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 贺卫国

(51) Int. Cl.

G01N 21/64(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

处理液组合物、试剂盒和生物器官透明化同
时进行免疫标记的方法

(57)摘要

本发明涉及处理液组合物、处理液试剂盒以
及生物器官透明化同时进行免疫标记的方法。本
发明的处理液组合物包含透明化处理液和与所
述透明化处理液的体积比为1:10至1:500的荧光
标记抗体,其中透明化处理液包含:糖类、尿素和
非离子表面活性剂。本发明允许抗体等生物大分
子在对整体器官(脑,脊髓,关节软骨,(荷瘤)脏
器等)进行透明化的同时进入器官内,实现整体
器官尺度上的直接或间接免疫标记。

1. 一种处理液组合物, 包含:
透明化处理液; 和
荧光标记抗体, 所述荧光标记抗体与所述透明化处理液的体积比为1:10至1:500,
其中, 所述透明化处理液包含:
糖类;
尿素;
非离子表及面活性剂, 所述非离子表面活性剂包括体积比为5:3至1:5的曲拉通和吐温混合物。
2. 根据权利要求1所述的处理液组合物, 其中所述糖类为果糖或蔗糖中的至少一种; 和/或, 所述曲拉通包括曲拉通X-100和曲拉通X-114; 和/或, 所述吐温包括吐温20, 吐温40和吐温60。
3. 根据权利要求1所述的处理液组合物, 其中每100ml所述透明化处理液包含: 20-30g的尿素, 10-15ml的非离子表面活性剂, 40-60g的糖类, 0-20ml的氨类, 0-2ml的抗氧化剂, 余量为水; 优选地, 随着糖类含量的增加, 尿素含量也增加, 或者随着糖类含量的减少, 尿素含量也减少。
4. 根据权利要求1所述的处理液组合物, 其中抗体包括以下抗体中的至少一种:
抗甲胎蛋白抗体 (anti-AFP), 分子量约65kD, 优选使用浓度范围为5-25 $\mu\text{g}/\text{ml}$;
抗生存素抗体 (anti-Survivin), 分子量约16kD, 优选使用浓度范围为5-25 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 和
抗绿色荧光蛋白抗体 (anti-GFP), 分子量约27kD, 优选使用浓度范围为10-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。
5. 一种处理液试剂盒, 包含:
第一部分, 包括: 透明化处理液和按1:10至1:500体积比与透明化处理液混合的一抗;
和
第二部分, 包括: 透明化处理液和按1:10至1:500体积比与透明化处理液混合的带荧光标记的二抗,
其中所述透明化处理液为根据权利要求1-3中任一项所述的透明化处理液。
6. 根据权利要求5所述的处理液试剂盒, 其中所述的一抗包括:
抗哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (anti-mTOR) 抗体, 兔源, 分子量约289kD, 优选使用浓度范围为10-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$;
抗 β -III型微管蛋白抗体 (anti- β -III Tubulin), 小鼠来源, 分子量约55kD, 优选使用浓度范围为10-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$;
抗神经元特异性核蛋白抗体 (anti-NeuN), 兔源, 分子量约34kD, 优选使用浓度范围为10-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 或
抗II型胶原蛋白抗体 (anti-II collagen), 分子量约142kD, 小鼠来源, 优选使用浓度范围为10-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$,
所述的带荧光标记的二抗是能够与一抗特异性结合 (抗小鼠或抗兔) 的免疫球蛋白 (IgG), 其携带荧光标记。
7. 一种生物器官透明化同时进行免疫标记的方法, 包括用权利要求1-4中任一项所述的处理液组合物浸泡生物组织器官; 优选地, 浸泡在37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温进行1-7天。
8. 一种生物器官透明化同时进行免疫标记的方法, 包括用根据权利要求5-6中任一项

所述的处理液试剂盒处理生物组织器官,其中

先用第一部分浸泡生物组织器官,优选地,浸泡在37℃恒温进行1-4天;

然后,用第二部分浸泡生物组织器官,优选地,浸泡在37℃恒温进行1-3天。

9. 根据权利要求7或8所述的生物器官透明化同时进行免疫标记的方法,其中所述生物组织器官包括脑、脊髓、关节软骨以及脏器。

处理液组合物、试剂盒和生物器官透明化同时进行免疫标记的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物组织整体器官透明化和免疫标记的方法,特别是涉及用于将脑、脊髓、关节软骨、脏器等整体器官在透明化的同时直接或间接免疫荧光标记的处理液和方法。

背景技术

[0002] 组织透明方法可以实现组织无损情况下的大尺度高分辨检测与组织形态的三维结构重建。相对于传统的组织切片与染色方法具有显著性的进步。目前开发的所有组织透明方法中,只有部分组织透明方案允许整体器官免疫标记,如iDisco、Clarity、Cubic、ACT-presto等。Clarity和Cubic均去除了细胞膜,允许大分子进入,但是过程繁琐,需时近1-2周;iDisco使用的是有机溶剂,荧光兼容性较差,组织变硬变脆,且刺激性气味对人体有害;ACT-presto借助压力,需要专门设备,且免疫标记前需要繁杂的前处理过程。

发明内容

[0003] 本发明旨在提供一种操作简单、高效的整体器官或组织透明化同时免疫标记的技术方案。

[0004] 为了实现上述目的,作为本发明的一个方面,本发明提供了一种处理液组合物,包含:

[0005] 透明化处理液;和

[0006] 荧光标记抗体,所述荧光标记抗体与所述透明化处理液的体积比为1:10至1:500,

[0007] 其中,所述透明化处理液包含:

[0008] 糖类;

[0009] 尿素;

[0010] 非离子表及面活性剂,所述非离子表面活性剂包括体积比为5:3

[0011] 至1:5的曲拉通和吐温混合物。

[0012] 在某些实施方案中,糖类为果糖或蔗糖中的至少一种。

[0013] 在某些实施方案中,曲拉通包括曲拉通X-100和曲拉通X-114。

[0014] 在某些实施方案中,吐温包括吐温20,吐温40和吐温60。

[0015] 在某些实施方案中,每100ml透明化处理液包含:20-30g的尿素,10-15ml的非离子表面活性剂,40-60g的糖类,0-20ml的氨类,0-2ml的抗氧化剂,余量为水。

[0016] 在某些实施方案中,透明化处理液为一系列处理液,其中随着糖类含量的增加,尿素含量也增加,或者随着糖类含量的减少,尿素含量也减少。

[0017] 在某些实施方案中,抗体包括以下抗体中的至少一种:anti-AFP抗体,分子量约65kD,优选使用浓度范围为5-25 μ g/ml;anti-Survivin抗体,分子量约16kD,优选使用浓度范围为5-25 μ g/ml;和anti-GFP抗体,分子量约27kD,优选使用浓度范围为10-100 μ g/ml。

- [0018] 作为本发明的另一个方面,本发明还提供一种处理液试剂盒,其包含:
- [0019] 第一部分,包括:透明化处理液和按1:10至1:500体积比与透明化处理液混合的一抗;和
- [0020] 第二部分,包括:透明化处理液和按1:10至1:500体积比与透明化处理液混合的带荧光标记的二抗,
- [0021] 其中的透明化处理液为上述的透明化处理液。
- [0022] 在某些实施方案中,处理液试剂盒中的一抗包括:
- [0023] anti-mTOR一抗(抗哺乳动物雷帕霉素靶蛋白),分子量约289kD,优选使用浓度范围为10-50 μ g/ml;
- [0024] anti- β -III Tubulin一抗(抗 β -III型微管蛋白抗体),分子量约55kD,优选使用浓度范围为10-50 μ g/ml;
- [0025] anti-NeuN一抗(抗神经元特异性核蛋白抗体),分子量46-55kD,优选使用浓度范围为10-200 μ g/ml;或
- [0026] anti-II collagen一抗(抗II型胶原蛋白抗体),分子量约142kD,小鼠来源,优选使用浓度范围为10-200 μ g/ml,
- [0027] 所述的带荧光标记的二抗是携带荧光标记的、能够与一抗特异性结合(抗小鼠或抗兔)的免疫球蛋白(IgG)。
- [0028] 作为本发明的另一个方面,本发明还提供一种生物器官透明化同时进行免疫标记的方法,包括用上述的处理液组合物浸泡生物组织器官;优选地,浸泡在37 $^{\circ}$ C恒温进行1-7天。
- [0029] 在某些实施方案中,将生物组织器官浸泡在处理液组合物中,待组织透明化后,用不含抗体的透明化处理液清洗以除去未结合的抗体。
- [0030] 作为本发明的另一个方面,本发明还提供一种生物器官透明化同时进行免疫标记的方法,包括用上述的处理液试剂盒处理生物组织器官,其中
- [0031] 先用第一部分浸泡生物组织器官,优选地,浸泡在37 $^{\circ}$ C恒温进行1-4天;
- [0032] 然后,用第二部分浸泡生物组织器官,优选地,浸泡在37 $^{\circ}$ C恒温进行1-3天。
- [0033] 在某些实施方案中,先将生物组织器官浸泡在用透明化处理液稀释的一抗溶液中,待组织透明化后,用透明化处理液清洗以除去未结合的一抗;然后用透明化处理液稀释的带荧光标记的二抗溶液浸泡生物组织器官,约1-3天后,用不含抗体的透明化处理液清洗以除去未结合的二抗。
- [0034] 在某些实施方案中,所述生物组织器官包括脑、脊髓、关节软骨以及脏器(包括肿瘤脏器)。
- [0035] 在某些实施方案中,生物组织器官包括小鼠脑、大鼠脑、小鼠脊髓及关节软骨等组织器官,依据组织块大小,浸泡在37 $^{\circ}$ C恒温进行1-7天。
- [0036] 本发明提供了一种新的整体器官尺度上组织直接或间接免疫荧光的方法。该方法在组织透明化的同时实现整体器官尺度上的免疫荧光标记。
- [0037] 根据本发明,整个操作过程简单,不需要特殊实验装置;本发明方法的免疫荧光效果确定,而且可以以较快速度进行。

附图说明：

[0038] 图1为试验1中小鼠脑标本经本发明的处理液组合物整脑直接免疫荧光后的双光子显微镜图像。

[0039] 图2为试验2中小鼠荷瘤肝标本经本发明的处理液组合物透明化处理并整体器官直接免疫标记AFP及Survivin后的双光子显微镜图像。

[0040] 图3为试验3中成年小鼠脑经本发明处理液试剂盒透明化处理并整体组织间接免疫标记脑中mTOR后的双光子显微镜图像。

[0041] 图4为试验4中成年大鼠脑经本发明处理液试剂盒透明化处理并整体组织间接免疫标记脑中NeuN后的双光子显微镜图像。

[0042] 图5为试验5中成年小鼠脊髓经本发明处理液试剂盒透明化处理并整体组织间接免疫标记脊髓中 β -III tubulin后的双光子显微镜图像。

[0043] 图6为试验6中成年小鼠股骨头经本发明处理液试剂盒透明化处理并整体组织间接免疫标记关节软骨中的II-collagen后的双光子显微镜图像。

具体实施方式

[0044] 本发明提供了一种使完整器官透明的处理液,包含糖类、尿素、非离子表面活性剂。糖类选择为具有较高折射率的单糖例如果糖(RI为1.48),可以实现生物样本内部折光率的匹配,使组织更透明。但是以糖类为溶液的混合物,最高RI不能超过1.48,这对于实现组织内部各成分折光率的匹配是不够的,因此,需要将组织中某些固态成分充分水化,或者去除一些组织成分,如细胞膜脂质。尿素打破非共价键的相互作用,使蛋白质发生可逆性变性,它的加入增加样品中膜蛋白的溶解性,使其充分水化,降低其折光率。但是,仅采用糖类和尿素,生物组织器官的透明化需要很长的时间,而且存在与免疫荧光标记技术不兼容的问题。本发明的发明人发现细胞膜在组织透明化和荧光标记技术中起着非常重要的作用,可以选择性的诱导细胞膜在原位形成孔隙从而实现组织透明。其孔隙率和大小显著影响透明化的速度和效果以及大分子物质如抗体进入细胞;通过采用特定的非离子性表面活性剂(选自曲拉通和吐温两种的组合),可以使得细胞膜具有合适的孔隙率和大小,从而实现快速透明化并与免疫标记技术兼容。但是,乳化作用较强的疏水长链非离子表面活性剂或表面活性剂过量也会破坏细胞蛋白结构,从而影响荧光及免疫染色。经过反复试验,我们发现仅用曲拉通X-100或者曲拉通X-100含量过高时,组织结构会被破坏,而仅用吐温60时,透明时间长,透明效果不佳。只有在同时应用曲拉通X-100及吐温60时,且在合适的比例时(5:3-1:5),可在较短的时间内达到较好的透明效果。

[0045] 本发明的处理液包含质量体积分数为0~60%的糖类,例如果糖;质量体积分数为20~30%的尿素;体积分数为5-30%的非离子表面活性剂,如曲拉通X-100,吐温60等。

[0046] 本发明还提供一种混合液,包括不同浓度梯度物质组成一个处理液组合,优选由几种处理液组成。对于该处理液组合,糖类和尿素是关键变量。糖类浓度升高时,尿素溶解量下降。但是经过多次试验,我们发现在组织透明液中,当果糖浓度恒定时,尿素浓度越高,组织膨胀越明显;当尿素浓度恒定时,果糖浓度越高,组织皱缩越明显。本发明中,糖类和尿素的浓度同方向变化。为防止组织变形、保证折光率的匹配及免疫染色,选择糖类为0-60%,尿素为20-30%,且两者同向变化,以达到一个既能水化膜蛋白、匹配折光率,又能保

证组织不变形,并允许免疫标记的平衡。

[0047] 在具体实施方案的选择中,要综合考虑外源性生物大分子的通透性,组织的透明度,还有操作的简便性、速度、安全性、经济等各个方面,有时不得不在保证主要目的的前提下,对其他方面的特性进行让步。

[0048] 在本发明中,作为使生物组织器官透明化同时进行免疫标记的方法,只需将一抗及二抗以1:10-1:500的比例(具体的比例因抗体种类及厂家不同而不同)溶于透明处理液中,并且用所得的处理液或混合液浸泡生物组织器官即可。

[0049] 生物组织器官包括小鼠脑、大鼠脑、小鼠脊髓、荷瘤肝及关节软骨等组织器官等。浸泡可以在37℃恒温进行。

[0050] 下面结合具体实施例,并参照附图,对本发明作进一步的详细说明。

[0051] (1) 标本制备:成年C57BL小鼠,Thy1-gcams3-GFP转基因小鼠或HePG2细胞肝脏原位种植的荷瘤裸鼠,体重20-22g,过量3%苯巴比妥钠(2ml/kg)腹腔注射麻醉,用4%PFA经心脏灌注后,断头取脑,脊髓,股骨及荷瘤肝,置于4%PFA中4℃冰箱中过夜,再次固定。其中,股骨置于EDTA脱钙液中37℃水浴浸泡1周以脱去钙质。

[0052] 成年SD大鼠,体重约200-250g左右,过量3%苯巴比妥钠(2ml/kg)腹腔注射麻醉,用4%PFA经心脏灌注后,断头取脑,置于4%PFA中4℃冰箱中过夜,再次固定。

[0053] (2) 透明化处理液的配制:称取52g果糖于200ml的烧杯,置于60℃水浴中溶解,再加入24g尿素,5ml曲拉通X-100,6ml吐温60,去离子水定容至100ml,室温避光保存。

[0054] (3) 荧光抗体处理液组合物的配制:用上述配制好的透明化处理液将荧光标记的一抗,一抗及荧光标记的二抗以5-200ug/ml的浓度进行稀释,混匀,配制的二抗需用锡纸包裹以避光存放,待用。

[0055] (4) 整体组织尺度上的直接免疫荧光标记:

[0056] 试验1

[0057] 整脑免疫荧光——取小鼠脑,用1×PBS冲洗,3次×5min,然后置于5ml装有共轭594荧光素的抗GFP抗体(分子量27kD,50ug/ml,Thermo Fisher)透明溶液的离心管中,37℃恒温水浴,待样本透亮后,用不含荧光抗体的本发明混合液冲洗2h,并保存在本发明的混合液中直至双光子荧光成像。在整个过程中,装有转基因小鼠脑的离心管应包裹锡纸以避光。

[0058] 试验2

[0059] 整肝免疫荧光——取荷瘤肝,用1×PBS冲洗,3次×5min,然后置于5ml装有共轭488荧光素的抗AFP抗体(分子量70kD,25ug/ml,Abcam)及抗Survivin抗体(分子量16KD,25ug/ml,Cell Signal Technology)透明溶液的离心管中,37℃恒温水浴,待样本透亮后(1-3d),用本发明的混合液冲洗2h,摇床轻摇;然后放入用本发明的混合液配置的DAPI核染液(0.2mg/ml,索莱宝)中,常温,1d后,用本发明的混合液冲洗2h,摇床轻摇;然后,保存在本发明的混合液中直至双光子荧光成像。在整个过程中,本发明的混合液与荧光抗体配制的混合液组合应包裹锡纸以避光。

[0060] (5) 整体组织尺度上的间接免疫荧光标记:

[0061] 试验3

[0062] 小鼠1mm脑片mTOR间接免疫荧光——取小鼠脑,用小鼠脑matrix切成冠状面为1mm厚的脑片,用1×PBS冲洗,3次×5min,然后置于5ml离心管中,注入兔源的mTOR第一抗体(分

子量为289kD,50ug/ml,Cell Signal Technology)与本发明透明处理液配制的组合液中,37℃恒温水浴,待样本透亮后(1-3d),用本发明处理液浸洗过夜。然后用小鼠抗兔的mTOR第二抗体(25ug/ml,Abcam)与本发明透明处理液配制的组合液中,避光,37℃恒温水浴,1-2d后,用本发明处理液浸洗过夜并保存在本发明的处理液中直至双光子荧光成像。在整个过程中,荧光抗体(二抗)配制的组合液应包裹锡纸以避光。

[0063] 试验4

[0064] 大鼠1mm脑片NeuN间接免疫荧光——取大鼠脑,用大鼠脑matrix切成冠状面为1mm厚的脑片,用0.01M PBS冲洗,3次×5min,然后置于5ml离心管中,注入兔源的NeuN第一抗体(分子量为55kD,100ug/ml,Cell Signal Technology)与本发明透明处理液配制的组合液中,37℃恒温水浴,待样本透亮后(1-3d),用本发明处理液浸洗过夜。然后用小鼠抗兔的NeuN第二抗体(25ug/ml,Abcam)与本发明透明处理液配制的组合液中,避光,37℃恒温水浴,1-2d后,用本发明处理液浸洗过夜并保存在本发明的处理液中直至双光子荧光成像。在整个过程中,荧光抗体(二抗)配制的组合液应包裹锡纸以避光。

[0065] 试验5

[0066] 小鼠脊髓β-III Tubulin间接免疫荧光——取小鼠脑脊髓,在体式显微镜下小心剔除脊髓表面的被膜,用0.01M PBS冲洗,3次×5min,然后置于5ml离心管中,注入小鼠源的β-III Tubulin第一抗体(分子量为55kD,50ug/ml,Abcam)与本发明透明处理液配制的组合液中,37℃恒温水浴,待样本透亮后(1-3d),用本发明处理液浸洗过夜。然后用山羊抗小鼠的第二抗体IgG(40ug/ml,Abcam)与本发明透明处理液配制的组合液中,避光,37℃恒温水浴,1-2d后,用本发明处理液浸洗过夜并保存在本发明的处理液中直至双光子荧光成像。在整个过程中,荧光抗体(二抗)配制的组合液应包裹锡纸以避光。

[0067] 试验6

[0068] 小鼠膝关节II-collagen间接免疫荧光——取小鼠后肢股骨,在体式显微镜下小心剔除股骨头表面的肌肉和被膜,用0.01M PBS冲洗,3次×5min,然后置于50ml离心管中,注入EDTA脱钙液,37℃恒温水浴1周。待骨骼变软后,将其放入由小鼠源的II-collagen第一抗体与本发明透明处理液配置的组合液中,37℃恒温水浴,待样本透亮后(3-4d),用本发明处理液浸洗过夜。然后置于山羊抗小鼠的第二抗体IgG(40ug/ml,Abcam)与本发明透明处理液配制的组合液中,避光,37℃恒温水浴,2-3d后,用本发明处理液浸洗过夜并保存在本发明的处理液中直至双光子荧光成像。在整个过程中,荧光抗体(二抗)配制的组合液应包裹锡纸以避光。

[0069] 图1至图6显示了部分试验结果:

[0070] 图1为试验1中Thy1-gcamp3-GFP转基因小鼠脑标本经本发明实施例的处理液整脑直接免疫荧光后的双光子显微镜图像。可见本发明处理液组合液与荧光蛋白GFP也是兼容的,且允许大分子抗体物质进入,同步实现了整体器官的透明化处理及直接免疫荧光。图中,左图箭头所示为Thy1-gcamp3-GFP标记神经元,中图箭头所示为抗GFP抗体标记的神经元,右图为前两图合并,箭头所示为Thy1-gcamp3-GFP标记神经元与抗GFP抗体标记神经元的重合,表明抗GFP抗体可以进入组织与GFP特异性结合。

[0071] 图2为试验2中小鼠荷瘤肝标本经本发明的透明化处理并整体器官直接免疫标记AFP及Survivin后的双光子显微镜图像。上图:整肝AFP免疫荧光图片;下图:整肝Survivin

免疫荧光图片。可见,经过该实施例处理液处理后,整肝组织可实现同步透明化及免疫荧光标记。上图:左图中箭头所示为携带Alexa-488的抗AFP抗体标记细胞(胞浆),中图为细胞核DAPI染色,右图为前两图的合并,可见携带Alexa-488的抗AFP标记的细胞部位与核互补,可见抗AFP的抗体可进入整体肝组织,并特异地在胞浆中表达。下图:左图中箭头所示为携带Alexa-488的抗Survivin抗体标记细胞(胞核),中图为细胞核DAPI染色,右图为前两图的合并。可见抗Survivin标记的细胞部位与核重叠,可见携带Alexa-488的抗Survivin可以也进入整体肝组织,并且在荷瘤肝的肿瘤细胞核中特异性表达。

[0072] 图3为试验3中成年小鼠脑(1mm脑片)经本发明透明处理液透明化处理并整体组织间接免疫标记脑中mTOR后的双光子显微镜图像。图中箭头所示为抗mTOR抗体所标记细胞。可见,本发明处理液允许一抗及二抗进入并特异性结合,同步实现了小鼠脑整体组织的透明化处理及间接免疫荧光。

[0073] 图4为试验4中成年大鼠脑(1mm脑片)经本发明透明处理液透明化处理并整体组织间接免疫标记脑中NeuN后的双光子显微镜图像。图中箭头所示为抗NeuN抗体标记的神经元细胞。可见本发明处理液允许一抗及二抗进入并特异性结合,同步实现了大鼠脑整体组织的透明化处理及间接免疫荧光。

[0074] 图5为试验5中成年小鼠脊髓经本发明透明处理液透明化处理并整体组织间接免疫标记脊髓中 β -III-Tubulin后的双光子显微镜图像。图中箭头所示条纹状结构为抗 β -III-Tubulin抗体所标记的神经纤维。可见本发明处理液允许一抗及二抗进入并特异性结合,同步实现了小鼠脊髓整体器官的透明化处理及间接免疫荧光。

[0075] 图6为试验6中成年小鼠股骨头经本发明处理液试剂盒透明化处理并整体组织间接免疫标记关节软骨中的II-collagen后的双光子显微镜图像。图中箭头所示为抗II-collagen抗体所标记的II型胶原蛋白,位于关节面上或软骨细胞的胞浆中。可见本发明处理液允许一抗及二抗进入并特异性结合,同步实现了小鼠股骨头关节面及关节软骨整体器官的透明化处理及间接免疫荧光。

[0076] 本发明的技术方案至少具有以下优点之一:

[0077] 1、本发明所用处理液,37℃水浴恒温浸泡样本,没有繁杂的预处理和处理过程,操作简单;

[0078] 2、本发明可使不同动物(大鼠及小鼠等)、不同器官(脑,脊髓,关节软骨,荷瘤肝等)器官透明并免疫标记;

[0079] 3、本发明所用处理液可与荧光标记的一抗,一抗及荧光标记的二抗配制成整体免疫荧光溶液,可在整体器官水平实现同时透明化及免疫荧光标记的目的(见图1-6)。

[0080] 以上仅为本发明的优选实施例而已,并非限定发明保护范围,凡在本发明的精神和原则之内的任何修改、替换或改进等均包含在本发明的保护范围中。

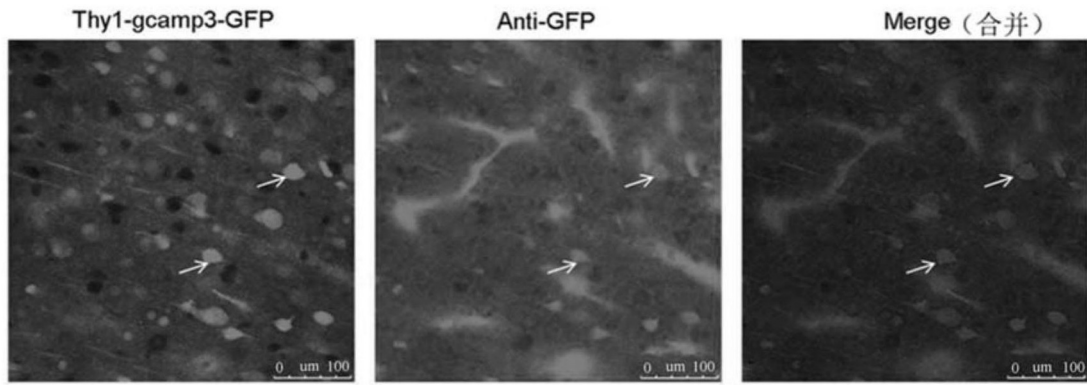


图1

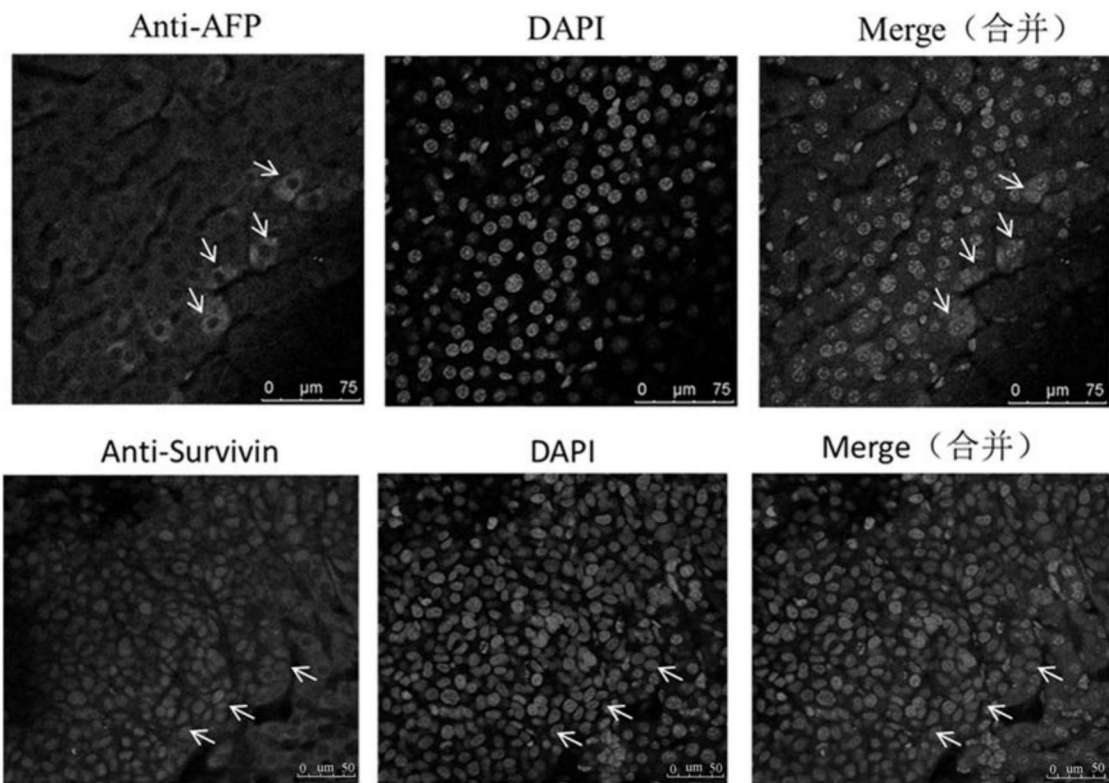


图2

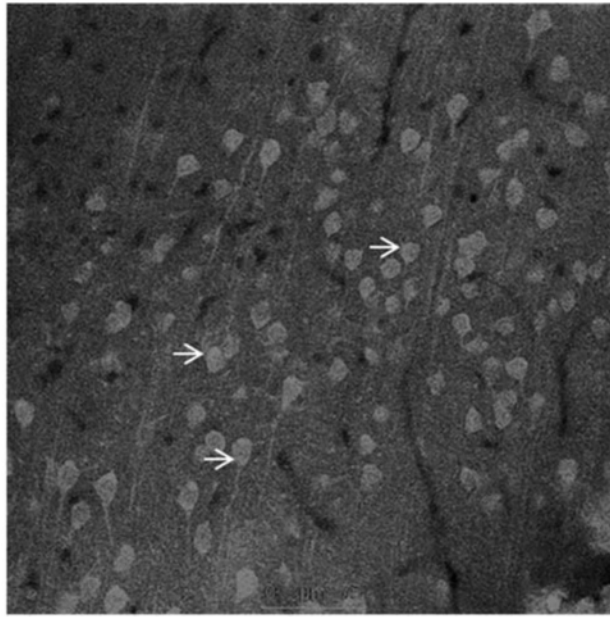


图3

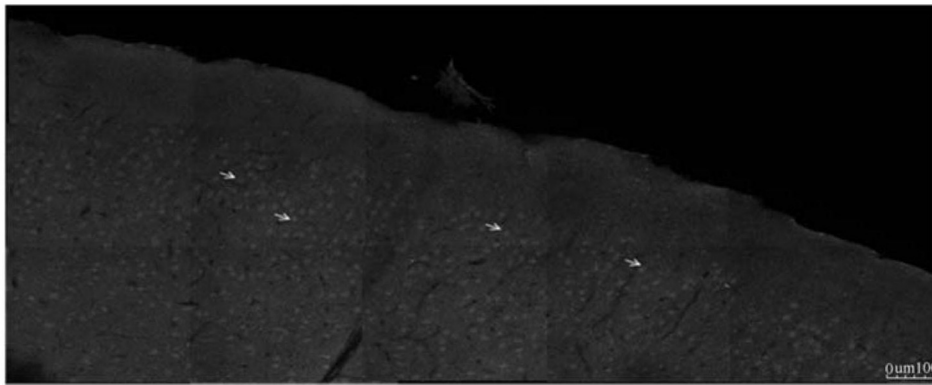


图4

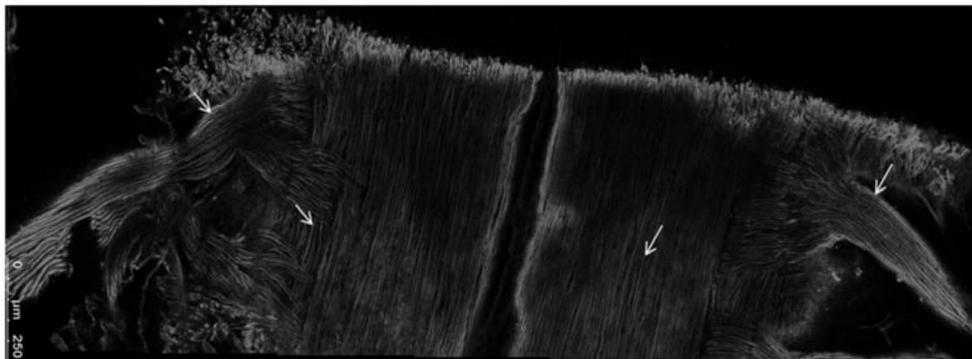


图5

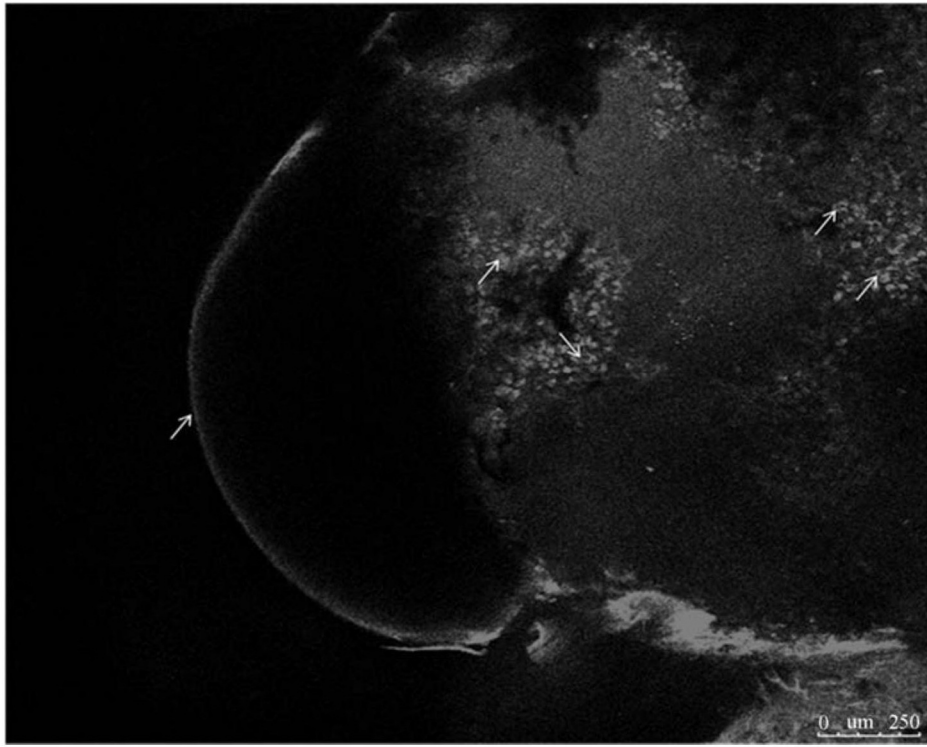


图6

专利名称(译)	处理液组合物、试剂盒和生物器官透明化同时进行免疫标记的方法		
公开(公告)号	CN110763661A	公开(公告)日	2020-02-07
申请号	CN201810824763.6	申请日	2018-07-25
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院合肥物质科学研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院合肥物质科学研究院		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院合肥物质科学研究院		
[标]发明人	钟凯 徐金勇 汪增荣		
发明人	钟凯 徐金勇 汪增荣		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/533		
CPC分类号	G01N21/6428 G01N21/6486 G01N33/533 G01N1/28 G01N1/30 G01N21/64 G01N33/53		
代理人(译)	贺卫国		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及处理液组合物、处理液试剂盒以及生物器官透明化同时进行免疫标记的方法。本发明的处理液组合物包含透明化处理液和与上述透明化处理液的体积比为1:10至1:500的荧光标记抗体，其中透明化处理液包含：糖类、尿素和非离子表面活性剂。本发明允许抗体等生物大分子在对整体器官(脑，脊髓，关节软骨，(荷瘤)脏器等)进行透明化的同时进入器官内，实现整体器官尺度上的直接或间接免疫标记。

