



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108037278 B

(45)授权公告日 2018.09.25

(21)申请号 201711330986.9

(22)申请日 2017.12.13

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108037278 A

(43)申请公布日 2018.05.15

(73)专利权人 广州吉奥生物科技有限责任公司
地址 510530 广东省广州市萝岗区瑞和路
79号

(72)发明人 丁晓昆 黄若磐 丁勃

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224

代理人 林青中

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

(56)对比文件

CN 1963439 A,2007.05.16,说明书第1-2
页.

CN 101275941 A,2008.10.01,全文.

CN 106701801 A,2017.05.24,全文.

EP 2486980 A1,2012.08.15,全文.

CN 101013086 A,2007.08.08,说明书第2
页,第4-5页.

陈玉娟等.组织芯片技术在乳腺癌HER2
FISH检测中的可靠性分析.《山西医科大学学
报》.2017,第48卷(第6期),第632-635页.

审查员 刘莉丹

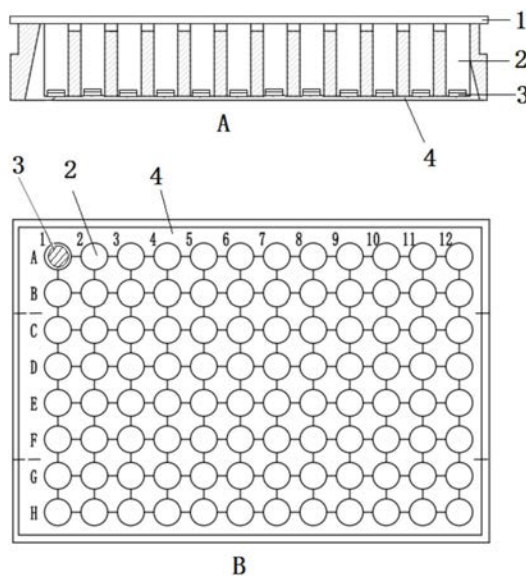
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

免疫组化检测切片的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种免疫组化检测切片的制备方法,包括如下步骤:获取待检测组织样品的石蜡切片,并将所述石蜡切片平铺于塑料膜上,石蜡切片与塑料膜紧密粘结形成贴附塑料膜的石蜡切片,烤片;对所述烤片后的贴附塑料膜的石蜡切片打孔,获得至少一片直径为1~30mm的圆形的贴附塑料膜的石蜡切片;将所述圆形的贴附塑料膜的石蜡切片转移至酶标板中,每孔一片,经脱蜡水化后获得圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片;对所述圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片进行染色,即可。本发明通过发明人创造性地将塑料膜与石蜡切片紧密粘结在一起,再经过打孔获得多个石蜡切片,最终实现采用一片待检测组织的石蜡切片制备多张切片,同时满足多项检测的需求。



1. 一种免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

获取待检测组织样品的石蜡切片,并将所述石蜡切片平铺于塑料膜上,石蜡切片与塑料膜紧密粘结形成贴附塑料膜的石蜡切片,烤片;

对所述烤片后的贴附塑料膜的石蜡切片打孔,获得至少一片直径为1~30mm的圆形的贴附塑料膜的石蜡切片;

将所述圆形的贴附塑料膜的石蜡切片转移至酶标板中,每孔一片,经脱蜡水化后获得圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片;

对所述圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片进行染色,即可;

所述塑料膜为耐受温度不低于265℃的塑料膜。

2. 根据权利要求1所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述圆形的贴附塑料膜的石蜡切片的直径为3~20mm。

3. 根据权利要求1所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述塑料膜的脆性温度不高于-196℃的塑料膜。

4. 根据权利要求3所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述塑料膜为聚酰亚胺塑料膜或聚萘酯塑料膜。

5. 根据权利要求1至4任一项所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述塑料膜的厚度为6~250μm。

6. 根据权利要求5所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述塑料膜的厚度为30~250μm。

7. 根据权利要求1至4任一项所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述烤片的条件为:温度为60~65℃、时间为25~35min。

8. 根据权利要求1至4任一项所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,其特征在于,所述塑料膜还进行如下预处理:先在所述塑料膜的表面涂覆体积比为5:(1~3)的蛋清、阴离子聚电解质水溶液的混合物后干燥,再在所述塑料膜预铺设石蜡切片的表面涂覆阳离子聚电解质溶液后干燥。

9. 根据权利要求8所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述阴离子聚合物可为聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸、聚苯乙烯磺酸、聚乙烯磺酸或聚乙烯磷酸。

10. 根据权利要求8所述的免疫组化检测切片的制备方法,其特征在于,所述阳离子聚电解质可为聚乙烯胺、聚乙烯吡啶、聚二烯丙二甲基氯化铵或聚乙烯亚胺;所述塑料膜在涂覆所述混合物、阳离子聚电解质溶液后均需转移至密封容器内,在沸点、表面张力均小于水的溶剂的蒸汽环境中进行蒸汽处理。

免疫组化检测切片的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,特别是涉及一种免疫组化检测切片的制备方法。

背景技术

[0002] 切片检查(pathological examination)指的是病理检查的一种,用以检查机体器官、组织或细胞中的病理改变的病理形态学方法。目前,切片检查已经大量应用于临床工作、科学研究,镜检切片的制备对于结果的诊断起着关键作用。传统镜检切片的制备主要是取大小为2.0cm×2.0cm×0.3cm的病理组织包埋于石蜡中,然后对其进行切片获得石蜡切片,再将所得的整片的石蜡切片贴附在载玻片上进行染色,每一整片的石蜡切片仅能进行一次染色、制备一张镜检切片,最终获得一个结果。

[0003] 由于在实际检测中,临床组织样品少,加上切片制作的复杂性,以及需要对同一个待检测组织样品进行多种抗原或者抗体或其他相关的检测,需要用到多个检测切片,因此,传统的检测切片制备方法难以满足后续多样性检测的需求。

发明内容

[0004] 基于此,有必要提供一种通过一片待检测组织样品的石蜡切片就能够得到多张检测切片的方法。

[0005] 一种免疫组化检测切片的制备方法,包括如下步骤:

[0006] 获取待检测组织样品的石蜡切片,并将所述石蜡切片平铺于塑料膜上,石蜡切片与塑料膜紧密粘结形成贴附塑料膜的石蜡切片,烤片;

[0007] 对所得贴附塑料膜的石蜡切片打孔,获得至少一个直径为1~30mm的圆形的贴附塑料膜的石蜡切片;

[0008] 将所述圆形的贴附塑料膜的石蜡切片转移至酶标板中,每孔一片,经脱蜡水化后获得圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片;

[0009] 对所述圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片进行染色,即可。

[0010] 在其中一些实施例中,所述圆形的贴附塑料膜的石蜡切片的直径为3~20mm。

[0011] 在其中一些实施例中,所述塑料膜为耐受温度不低于265℃的塑料膜;所述塑料膜的脆性温度不高于-196℃的塑料膜。

[0012] 在其中一些实施例中,所述塑料膜为聚酰亚胺塑料膜或聚萘酯塑料膜(2,6萘二甲酸乙二醇酯薄膜)。

[0013] 在其中一些实施例中,所述塑料膜的厚度为6~250μm。

[0014] 在其中一些实施例中,所述塑料膜的厚度为30~250μm。

[0015] 在其中一些实施例中,所述烤片的条件为:温度为60~65℃、时间为25~30min。

[0016] 在其中一些实施例中,所述塑料膜还进行如下预处理:先在所述塑料膜的表面涂覆体积比为5:(1~3)的蛋清、阴离子聚电解质水溶液的混合物后干燥,再在所述塑料膜预铺设石蜡切片的表面涂覆阳离子聚电解质溶液后干燥。

[0017] 在其中一些实施例中,所述阴离子聚合物可为聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸、聚苯乙烯磺酸、聚乙烯磺酸或聚乙烯磷酸;所述阳离子聚电解质可为聚乙烯胺、聚乙烯吡啶、聚二烯丙二甲基氯化铵或聚乙烯亚胺。

[0018] 在其中一些实施例中,所述塑料膜在涂覆所述混合物、阳离子聚电解质溶液后均需转移至密封容器内,在沸点、表面张力均小于水的溶剂的蒸汽环境中进行蒸汽处理。

[0019] 本发明实施例染色后获得免疫组化检测切片能够直接置于酶标仪中定量检测,或者从酶标板中转移至载玻片上、封片后置于显微镜下进行定性检测。

[0020] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0021] 本发明通过发明人创造性地将塑料膜与石蜡切片紧密粘结在一起,再经过打孔获得多个石蜡切片,特别是,通过控制圆形的贴附塑料膜的石蜡切片的直径为3~20mm,能够实现多片圆形的贴附塑料膜的石蜡切片在酶标板中进行不同的染色处理,使其与酶标板的孔径相匹配,最终实现采用一片待检测组织的石蜡切片制备多张切片,同时满足多项检测的需求。本发明巧妙地结合酶标板,对获得的小规格石蜡切片进行染色处理,减少试剂用量,还易于控制湿度,避免试剂蒸发、组织干燥从而对染色结果造成不良影响,快速得到高质量的镜检切片。

[0022] 本申请的塑料膜优选为耐受温度不低于265℃的塑料膜,采用该膜能够避免塑料膜与组织切片的结合体在后续加热处理过程中因塑料膜的热膨胀而导致组织切片撕裂,也不会导致因塑料膜的冷却收缩而导致组织切片出现折叠从而影响后续染色效果及观察效果。

[0023] 本申请的塑料膜优选为脆性温度不高于-196℃的塑料膜,采用该膜能够避免打孔过程中因应力而出现塑料膜开裂、微裂及顶白的现象,实现塑料膜与组织切片受力一致、形变趋同,从而保证了塑料膜与组织切片结合体的稳定性、厚度的均一性,最终确保染色质量。

附图说明

[0024] 图1为本发明实施例用打孔器将组织切片打成小片后置于酶标板中进行免疫化学染色方法的示意图;

[0025] 图2为采用本发明实施方法对乳腺癌组织切片进行免疫组化化学染色的结果示意图。

具体实施方式

[0026] 以下结合具体实施例对本发明的免疫组化检测切片的制备方法作进一步详细的说明。为了使得本发明实施例提供的免疫组化检测切片的制备方法更加清楚,现以对乳腺组织样品进行制片,镜检后确定乳腺癌分子亚型进行举例说明,但需要说明的是本发明所要保护的方案不限于下述各例。可以理解的是,本发明实施例所述的石蜡切片是采用常规方法(例如包括取材、固定、洗涤与脱水、透明、浸蜡与包埋、切片)制备得到的石蜡切片,厚度为3~5 μm 。

[0027] 传统的乳腺组织样品检测中,一般需要采用六种标志物分别进行乳腺癌病理标本进行免疫组化染色,包括雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、HER2、CK5/6、表皮生长因子受

体(EGFR)和Ki-67。根据这六种标志物的表达情况分为管腔上皮型(分A、B两种),HER2过表达型和基底样型,不同亚型的划分与临床用药的选择以及病人预后密切相关,具有重要的临床参考价值。如果按照传统的制片方法,那么同时检测六种标志物至少需要六个常规规格的石蜡切片,分别置于载玻片上,用不同抗体进行免疫化学染色,最终制备六张观察片,即每个常规规格的石蜡切片仅能用于检测一种标志物,这样就会对病理组织的需求量增大、相关处理试剂用量增加。

[0028] 而采用本发明实施例提供的方法,仅需采用一片石蜡组织切片即可完成六种标志物的检测。本发明实施例打孔所采用的装置可以采用市售的打孔器。本发明实施例采用的对照、一抗、荧光二抗均为传统种类,其中阳性对照品包括ER阳性对照品、PR阳性对照品、HER2阳性对照品、CK5/6阳性对照品、EGFR阳性对照品、Ki-67阳性对照品;一抗包括抗ER抗体、抗PR抗体、抗HER2抗体、抗CK5/6抗体、抗EGFR抗体、抗Ki-67抗体;荧光二抗包括抗ER抗体的荧光二抗、抗PR抗体的荧光二抗、抗HER2抗体的荧光二抗、抗CK5/6抗体的荧光二抗、抗EGFR抗体的荧光二抗、抗Ki-67抗体的荧光二抗。可以理解的是,还可准备抗体稀释溶液,所有的一抗采用黑色帽的棕色玻璃瓶盛放,荧光二抗用红色帽的棕色玻璃瓶盛放,抗体浓缩溶液用黑色帽的黑色PE塑料瓶盛放,抗体稀释液用红色帽的白色PE塑料瓶盛放。

[0029] 实施例1

[0030] 本实施例提供一种免疫组化检测切片的制备方法,包括如下步骤:

[0031] 步骤一,获取待检测乳腺组织样品的石蜡切片,并将所述石蜡切片平铺于聚酰亚胺塑料膜(市售,耐受温度为400℃,脆化温度零下200℃)上,石蜡切片与塑料膜紧密粘结合成贴附塑料膜的石蜡切片,碾平后于60℃烤片30min;本步骤采用的聚酰亚胺塑料膜的厚度为30μm;本步骤所述的碾平方式为采用橡胶滚筒在乳腺癌石蜡切片来回辊动;

[0032] 步骤二,对所得贴附有塑料膜的石蜡切片打孔,获得18片(共计6个处理,每个处理重复3次)直径为3mm的圆形的贴附有塑料膜的石蜡切片;

[0033] 步骤三,将所述贴附有塑料膜的石蜡切片小块转移至酶标板孔中,每孔一片,经脱蜡水化后获得圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片;为了提高检测的准确度,该步骤还设有ER阳性对照品、PR阳性对照品、HER2阳性对照品、CK5/6阳性对照、EGFR阳性对照、Ki-67阳性对照,每个对照重复一次;在后续的免疫染色过程中对酶标板的每个处理进行标记,酶标板上的各处理布局可参照如下:

[0034]

ER 阳性对照	PR 阳性对照	HER2 阳性对照	CK5/6 阳性对照	EGFR 阳性对照	Ki-67 阳性对照
ER 重复 1	PR 重复 1	HER2 重复 1	CK5/6 重复 1	EGFR 重复 1	Ki-67 重复 1
ER 重复 2	PR 重复 2	HER2 重复 2	CK5/6 重复 2	EGFR 重复 2	Ki-67 重复 2
ER 重复 3	PR 重复 3	HER2 重复 3	CK5/6 重复 3	EGFR 重复 3	Ki-67 重复 3

[0035] 步骤四,将步骤三所得圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片进行免疫组化化学染

色,并于所述染色结束后将其转移至载玻片上,无需去除贴附的圆形塑料膜即可封片。

[0036] 本步骤中所述的免疫化学染色包括抗原修复、位点封闭、加一抗、加荧光二抗步骤;

[0037] 所述的脱蜡水化包括:用二甲苯和梯度酒精脱掉切片中的石蜡并使组织细胞重新与水融合;其中,二甲苯脱蜡连续透明处理2次,每次10min;所述的梯度乙醇洗脱具体是先以100%浓度酒精洗脱5min,再以95%浓度酒精洗脱两次,每次2min;该步骤所述的“%”具体指体积比;可以理解的是,脱蜡水化之后,还可采用去离子水冲洗一遍;

[0038] 所述的抗原修复包括:向酶标板中的每个孔中加入枸橼酸盐缓冲液(pH6.0)中,使用微波炉加热,先高火5min,然后中低火10min,最后自然冷却到室温;可以理解的是,抗原修复之后还需向酶标板的每个孔中加入PBS缓冲液,对组织切片进行洗涤,一般洗涤的次数为3次,每次3min;

[0039] 所述的位点封闭包括:向酶标板的每个孔中加入3% H_2O_2 (%为体积百分比,溶剂为PBS缓冲液),避光孵育10min,去离子水洗涤;可以理解的是位点封闭之后,每个孔中的组织切片需采用PBS进行洗涤,洗涤的次数为3次,每次3min;

[0040] 所述的加一抗,包括:根据标记分别滴加抗雌激素抗体、抗孕激素抗体和抗HER2、CK5/6、EGFR和Ki-67抗原的特异性抗体,用封板膜(也可由耐高温材料制备)密封盖酶标板,4℃过夜;

[0041] 所述的加荧光二抗,包括:将酶标板从冰箱中取出,放入PBS中洗3次,每次5分钟,吸干组织周围的PBS后,滴加各自相应的荧光二抗,然后置于37℃温箱中0.5小时;

[0042] 荧光二抗处理结束后,从温箱中取出酶标板,放入PBS缓冲液中连续洗涤3次,每次5min,吸干周围的PBS缓冲液之后,将圆形的贴附有塑料膜的亲水性组织切片翻转置于载玻片上,使亲水性组织切片贴附于载玻片上,封片后在荧光显微镜下观察进行观察。

[0043] 本实施例按照上述设置可以采用24孔板对一个乳腺组织样品进行免疫化学染色,也可以参照上述设置采用96孔板同时对四个乳腺组织样品进行免疫化学染色,具体示意图见图1,其中1是封板膜,2是酶标板的孔,3是附有塑料膜的石蜡切片小块,4是酶标板(96孔板)。

[0044] 本实施例先将乳腺组织样品石蜡切片平铺于塑料膜上,碾平后对其进行打孔,再将获得的若干组织切片小片分别置于酶标板的孔中进行免疫化学染色,在仅采用一片石蜡切片的条件下即可进行多种抗体的检测,操作简单、高效、节约成本,并且乳腺组织样品石蜡切片与塑料膜结合牢固未出现脱落现象。

[0045] 本实施例选用的塑料膜为聚酰亚胺塑料膜,该塑料膜的耐受温度大于265℃,热稳定性与组织样品一致,能够避免塑料膜与组织切片的结合体在后续加热处理步骤(例如烤片、抗原修复)过程中因塑料膜的热膨胀而导致组织切片撕裂,也不会导致因塑料膜的冷却收缩而导致组织切片出现折叠从而影响后续染色效果及观察效果。本例选用的塑料膜为脆性温度不高于-196℃的塑料膜,采用该膜能够避免了打孔过程中因应力而出现塑料膜开裂、微裂及顶白的现象,实现塑料膜与组织切片受力一致、形变趋同,从而保证了塑料膜与组织切片结合体的稳定性、厚度的均一性,最终确保染色质量。

[0046] 按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组织切片的过程中,仅有5张组织切片于液体处理过程中出现塑料膜脱落的情形;虽然本例采用小规格石蜡切片进行制片,

但待检测乳腺组织样品处理均匀充分、染色效果好,镜下观察结果见图2。

[0047] 图2中,图2A为雌激素受体(ER)阳性对照,图2B为检测样品雌激素受体(ER)为阴性,图2C为孕激素受体(PR)阳性对照,图2D为检测样品孕激素受体(PR)为阴性,图2E为HER2荧光染色阳性对照,图2F为检测样品HER2为阴性,图2G为检测样品EGFR为阳性,图2H为检测样品CK5/6为阳性,图2I为Ki-67荧光染色为阳性。上述结果表明,待检测组织样品为基底样型乳腺癌。

[0048] 实施例2

[0049] 本实施例是实施例1的变化例,与实施例1相比,变化之处仅在于:

[0050] 步骤一中,塑料膜选用聚萘酯塑料膜(市售,耐受温度为265℃,脆性温度低于零下196℃),烤片温度为65℃,聚酯塑料膜的厚度为250μm;本步骤所述的碾平方式为采用玻璃棒在乳腺癌石蜡切片来回辊动;

[0051] 步骤二中,对所得贴附有塑料膜的石蜡切片打孔,获得直径为20mm的圆形的贴附有塑料膜的石蜡切片。

[0052] 本实施例采用四个六孔板进行免疫荧光染色。

[0053] 按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组织切片的过程中,仅有5张组织切片于液体处理过程中出现塑料膜脱落的情形;虽然本例采用小规格石蜡切片进行制片,但待检测乳腺组织样品处理均匀充分、染色效果好,镜下观察结果与实施例1一致。

[0054] 实施例3

[0055] 本实施例是实施例1的改进例,与实施例1相比,改进之处仅在于:

[0056] 步骤一中,所述塑料膜还进行如下预处理:先在所述塑料膜的表面涂覆体积比为5:2的蛋清、阴离子聚电解质水溶液(该水溶液的质量浓度为0.5%)的混合物后干燥,再在所述塑料膜预铺设石蜡切片的表面涂覆阳离子聚电解质溶液(该水溶液的质量浓度为0.5%)后干燥,其中阴离子聚电解质为聚丙烯酸、阳离子聚电解质为聚乙烯胺。本例所述的干燥为晾干。

[0057] 本例对塑料膜进行上述预处理,不仅能够提升组织切片与塑料膜结合的牢固程度,并且在处理过程中,塑料膜具备很好的亲水性能,在向酶标板中加入处理液体(如PBS缓冲液)时,塑料膜-石蜡切片能够很好的浸润在处理液体中,实现很好处理效果。具体地,本发明实施例采用体积比为5:(1~3)的蛋清、阴离子聚电解质水溶液的混合物配方,即便在液体中浸润很长的时间,该混合物依然稳定存在于塑料膜的表面,并且该层混合物在塑料膜表面形成的膜层透水性好,不会阻碍组织切片的处理效果,进一步地,再涂覆后阳离子聚电解质溶液后,阳离子聚电解质能够通过静电作用与阴离子聚电解质物理吸附,同时也能够通过电荷作用与组织切片上的蛋白结合,从而更加牢固了组织切片与塑料膜的结合力。更重要的是,发明人发现,用预处理之的塑料膜承载组织切片还避免了在后续操作过程中组织切片边缘容易蒸发干枯的现象。

[0058] 按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组织切片的过程中,仅有3张组织切片于液体处理过程中出现塑料膜脱落的情形;虽然本例采用小规格石蜡切片进行制片,但待检测乳腺组织样品处理均匀充分、染色效果好,镜下观察结果与实施例1一致。

[0059] 实施例4

[0060] 本实施例是实施例3的改进例,与实施例3相比,改进之处仅在于:步骤一中,塑料

膜在涂覆所述混合物、阳离子聚电解质溶液后均转移至密封容器内,在沸点、表面张力均小于水的溶剂(氯仿)的蒸汽环境中进行蒸汽处理。

[0061] 在预处理过程中,如果不进行蒸汽处理而直接干燥(采用直接晾干或者直接低温烘干),那么预处理后在塑料膜表面形成的膜层会不均匀,这种不均匀状态给组织切片与塑料膜的结合牢固度带来了隐患,很容易造成在后续处理过程中组织切片脱落。经过长时间的摸索,发明人推断,这种不均匀性可能是由于“咖啡杯”效应导致的。为此,发明人对涂覆后的塑料膜进行蒸汽处理,并且蒸汽来自表面张力、沸点均低于水的溶剂,该处理能够克服“咖啡杯”效应,使得涂覆于塑料表面的物质均匀的沉积成层,最终获得平滑的表面,增加组织切片与塑料膜的稳定性,并且,发明人还意外的发现,蒸汽处理后塑料膜的亲水性起到显著的提升,在后续处理中能够在较短的时间内获得较好的处理效果。

[0062] 按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组织切片的过程中,未出现塑料膜脱落的情形;虽然本例采用小规格石蜡切片进行制片,但待检测乳腺组织样品处理均匀充分、染色效果好,镜下观察结果与实施例1一致。

[0063] 对比例1

[0064] 本例是实施例1的对比例,与实施例1相比,对比之处仅在于:采用的塑料膜为市售聚碳酸酯塑料膜,耐受温度150℃,脆性温度为零下100℃。

[0065] 结果,实施步骤一时发现,待检测乳腺组织样品的石蜡切片在碾平烤片过程中会出现切片与塑料膜分离从而呈现存在小气泡的状态,并且在烤片中塑料膜形变较大,从而使得贴服其上的石蜡切片出现部分撕裂状态,降低了石蜡切片的利用率;另外,在打孔的过程中容易出现微裂,贴附在微裂部位的石蜡切片小块在后续液体处理过程中容易出现脱落,脱落的组织切片由于厚度较小而容易发生折叠,从而不利于后续染色,也不利于将其从酶标板中取出转移至载玻片上观察。

[0066] 虽然本例采用小规格石蜡切片进行制片,但待检测乳腺组织样品处理均匀充分、染色效果好,镜下观察结果与实施例1一致,但按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组织切片的过程中,有15张组织切片于液体处理过程中出现塑料膜脱落的情形。

[0067] 对比例2

[0068] 本例是实施例1的对比例,与实施例1相比,对比之处仅在于:

[0069] 步骤一中,聚酰亚胺塑料膜的厚度为6μm;

[0070] 步骤二中,圆形的贴附有塑料膜的石蜡切片的直径为1mm。

[0071] 虽然待检测乳腺组织样品处理均匀充分、染色效果好,电镜下观察结果与实施例1一致,但按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组织切片的过程中,有10张组织切片于液体处理过程中出现塑料膜脱落的情形。

[0072] 对比例3

[0073] 本例是实施例1的对比例,对比之处在于步骤一具体是:获取待检测乳腺组织样品的石蜡切片,并将所述石蜡切片平铺于透明的玻璃纸上,碾平后于60℃烤片30min。

[0074] 结果,步骤二打孔获得的附玻璃纸的石蜡切片小块的边缘很容易出现翘边(即边缘出现石蜡切片与玻璃纸分离),从而在后续处理中组织切片极易从玻璃纸上脱落,并且烤片后石蜡切片上的石蜡极易浸渍到玻璃纸中,使得玻璃纸疏水性增加,显著增加了后续脱蜡水化的时长,降低组织切片处理效率。按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组

织切片的过程中,有90张组织切片于液体处理过程中出现塑料膜脱落的情形;为了实现较好的脱蜡水化,需先二甲苯脱蜡连续透明处理4次(每次15mi n),再度乙醇洗脱,具体是先以100%浓度酒精洗脱15mi n,再以95%浓度酒精洗脱4次,每次5mi n。

[0075] 对比例4

[0076] 本例是实施例1的对比例,对比之处在于本例是一个先打孔后烤片的技术方案,对比的步骤包括步骤一和步骤二,具体如下:

[0077] 步骤一,获取待检测乳腺组织样品的石蜡切片,并将所述石蜡切片平铺于聚酰亚胺塑料膜上,碾平后对其进行打孔,从而获得圆形的贴附有塑料膜的石蜡切片;

[0078] 步骤二,将所述圆形的贴附有塑料膜的石蜡切片置于60℃烤片30mi n。

[0079] 结果发现,先打孔再烤片不仅增加操作的繁琐程度,更重要的是直接对石蜡切片进行打孔很容易导致石蜡固定的组织随着石蜡的粉碎而出现边缘撕裂、破碎,不利于其塑料膜的紧密粘结。按照本例提供的组织切片的制备方法制备100张组织切片的过程中,有80张组织切片于液体处理过程中出现塑料膜脱落的情形。

[0080] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0081] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

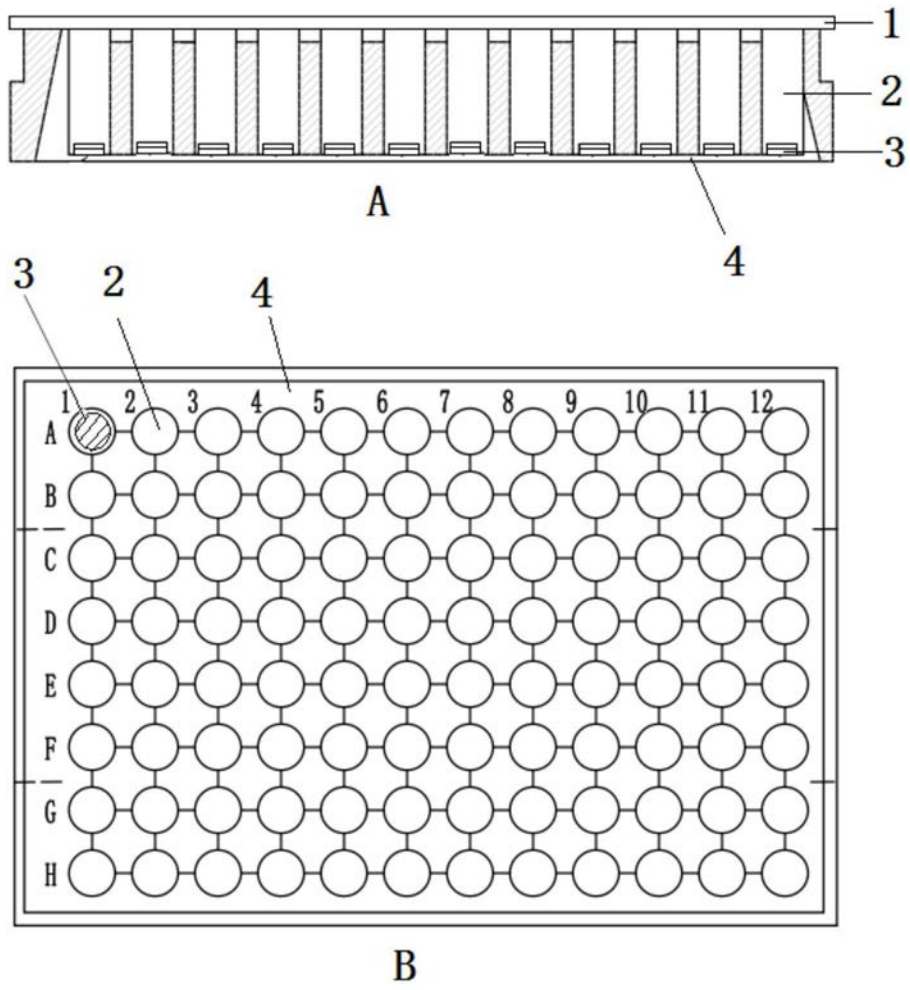


图1

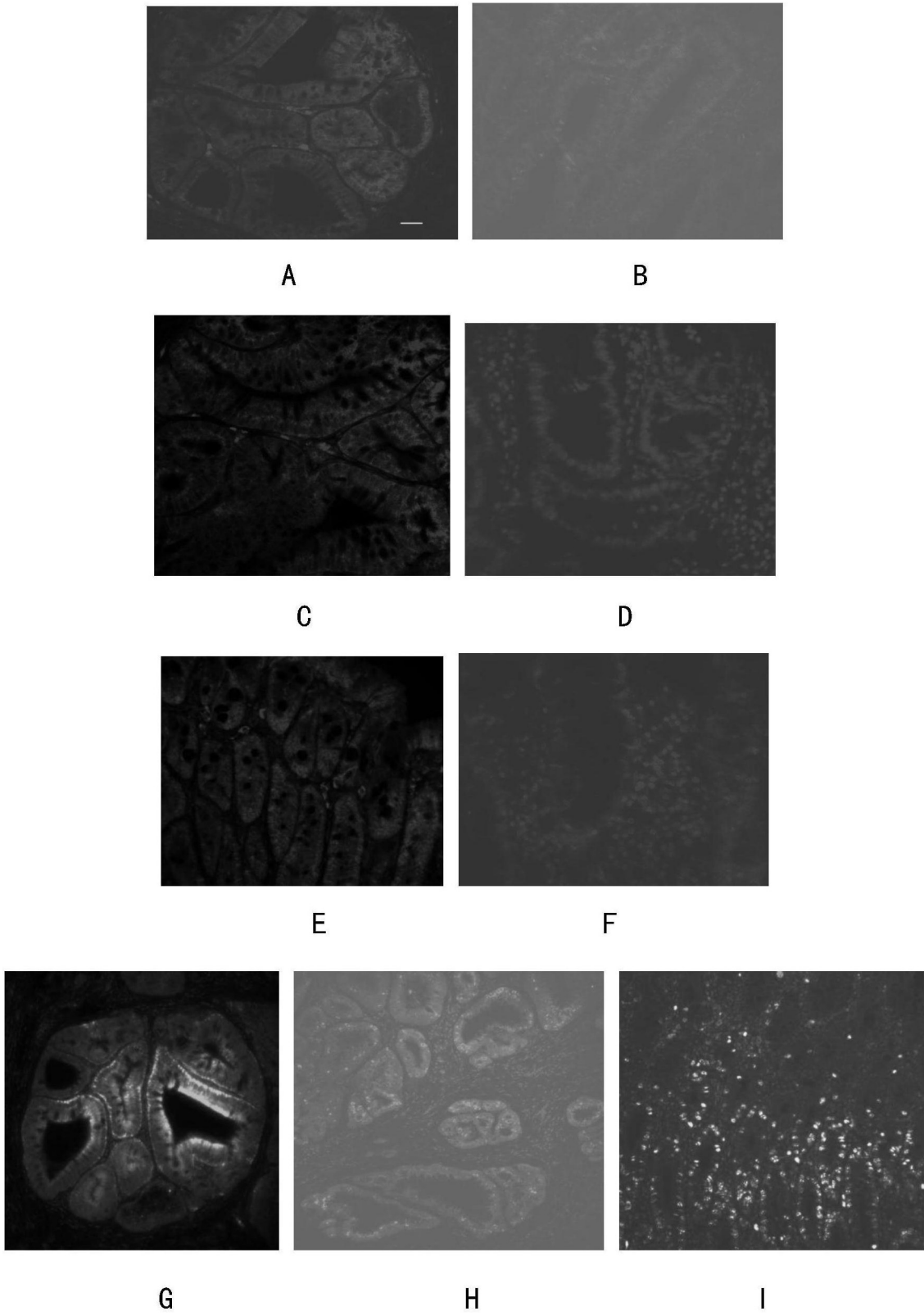


图2

专利名称(译)	免疫组化检测切片的制备方法		
公开(公告)号	CN108037278B	公开(公告)日	2018-09-25
申请号	CN201711330986.9	申请日	2017-12-13
[标]发明人	丁晓昆 黄若馨 丁勃		
发明人	丁晓昆 黄若馨 丁勃		
IPC分类号	G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531		
代理人(译)	林青中		
其他公开文献	CN108037278A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种免疫组化检测切片的制备方法，包括如下步骤：获取待检测组织样品的石蜡切片，并将所述石蜡切片平铺于塑料膜上，石蜡切片与塑料膜紧密粘结形成贴附塑料膜的石蜡切片，烤片；对所述烤片后的贴附塑料膜的石蜡切片打孔，获得至少一片直径为1~30mm的圆形的贴附塑料膜的石蜡切片；将所述圆形的贴附塑料膜的石蜡切片转移至酶标板中，每孔一片，经脱蜡水化后获得圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片；对所述圆形的贴附塑料膜的亲水性组织切片进行染色，即可。本发明通过发明人创造性地将塑料膜与石蜡切片紧密粘结在一起，再经过打孔获得多个石蜡切片，最终实现采用一片待检测组织的石蜡切片制备多张切片，同时满足多项检测的需求。

