石蜡切片 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	俊杰电子有限公司	JJ-12J
包埋机	俊杰电子有限公司	JB-P5
病理切片机	上海徕卡仪器有限公司	RM2016
冻台	俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	浙江省金华市科迪仪器设备有限公司	KD-P
烤箱	上海慧泰仪器制造有限公司	DHG-9140A
载玻片	陕西依科生物技术服务有限公司	YK116
盖玻片	江苏世泰实验器材有限公司	10212432c
微波炉	美的微波电器制造有限公司	MM823LA6-NS
脱色摇床	北京市六一仪器厂	WD-9405A
涡旋混合器	天悦电子	TYXH-II
移液枪	Dragon	KE0003087/KA0056573
组化笔	福州迈新	PEN-0002
正置显微镜	日本尼康	ci-s
扫描仪（白光）	日本滨松	NanoZoomer-SQ
扫描仪（白光、荧光）	3DHISTEC	PannoramicMIDI

2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	10009218
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023428
柠檬酸（PH6.0)抗原修复液	陕西依科生物技术服务有限公司	YK2430
PBS 缓冲液	陕西依科生物技术服务有限公司	BF002
WGA	西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司	L4895
抗荧光淬灭剂	陕西依科生物技术服务有限公司	YK2256
DAPI	MCE	HY-D0814

二、WGA 染色步骤

1. **石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯Ⅰ8min-二甲苯Ⅱ8min-无水乙醇Ⅰ 6min-无水乙醇Ⅱ 6min-95%酒精 6min-85%酒精6min-75%酒精 5min-流水冲洗；

2. **抗原修复：**组织切片置于盛有柠檬酸（PH6.0)抗原修复液的高压锅内进行抗原修复，喷气计时 2.5min， 自然冷却后将玻片置于 PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃

动洗涤 3 次，每次 5min；

3. **加WGA染色液：**组化笔画圈，防止液体扩散，加稀释好的WGA染色液，4℃孵育过夜；
4. **洗片：**玻片置于 PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 8min；
5. **DAPI 染核：**滴加DAPI，室温孵育10min，之后玻片置于PBS（PH7.4）中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 6min；
6. **封片：**抗荧光淬灭剂封片；
7. **镜检拍照：**切片于荧光显微镜下观察并采集图像。（DAPI 紫外激发波长330-380nm，发射波长420nm，发蓝光；FITC激发波长465-495nm，发射波长515-555 nm，发绿光；）。

三、染色结果判读：DAPI染出来的细胞核在紫外的激发下为蓝色，WGA阳性表达为的绿色。