

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

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。