

需要但未提供的实验仪器与耗材

设备	LEICA Bond III 全自动 IHC 和 ISH 染色系统
试剂	BOND Epitope Retrieval Solution 2 (抗原修复液)
	BOND Wash Solution 10X (清洗缓冲液)
	BOND Polymer Refine Detection DAB (DAB 聚合物检测试剂)
	蒸馏水或去离子水 (试剂水)
耗材	防脱载玻片
	盖玻片
	永久性封片剂和封片所需的辅助试剂

操作步骤

- 脱蜡、水化和抗原修复:** 脱蜡水化后, 将插有 FFPE 组织切片的切片架浸入含 BOND Epitope Retrieval Solution 2 1x 抗原修复液中, 100℃孵育 25 分钟后, 组织切片于抗原修复液中自然冷却至室温, 使用 BOND Wash Solution 1x 清洗缓冲液洗 5 次, 室温孵育 3 分钟。
- 封闭:** 用 灭活内源性过氧化物酶 Peroxide Block 于室温孵育 5 分钟, 使用 BOND Wash Solution 1x 清洗缓冲液洗 3 次。
- 一抗孵育:** 每张切片加入约 150ul 的按效价稀释后的一抗试剂, 室温孵育 35 分钟, 使用 BOND Wash Solution 1x 清洗缓冲液洗 3 次。
- 二抗孵育:** 每张切片加入约 150ul 的 Post Primary (BOND Polymer Refine Detection DAB) 室温孵育 8 分钟, BOND Wash Solution 1x 清洗缓冲液洗 2 分钟×3 次; 每张切片加入约 150ul 的 Polymer (BOND Polymer Refine Detection DAB) 孵育 8 分钟, BOND Wash Solution 1x 清洗缓冲液洗 2 分钟×2 次, 去离子水洗 1 次。
- DAB 显色:** 每张切片加入约 150ul 的 Mixed DAB Refine (BOND Polymer Refine Detection DAB) 室温反应 10 分钟, 去离子水洗 3 次。
- 复染:** 每张切片使用约 150ul 的苏木素室温染色 5 分钟, 去离子水洗 1 次, BOND Wash Solution 1X 清洗缓冲液洗 1 次, 去离子水洗 1 次。

7. **封片**：脱水透明后，使用适量封片剂封片，显微镜下观察并进行结果判读。