

固定方案

免疫组织化学中需要固定,以防止降解的方式保存组织样本,并保留抗原性和组织结构。组织样本可能会发生自溶(自降解)或被微生物污染,从而导致抗原性和组织完整性的丧失。固定使蛋白质在组织中发生化学交联,保留组织结构并稳定抗原,从而可以使用免疫组织化学技术检测它们。固定有助于将组织保持一致的状态,从而获得可重复的结果并随着时间的推移对样品进行比较。

有两种类型的固定:福尔马林(4%多聚甲醛)和酒精固定(例如乙醇或甲醇)。

福尔马林固定的优点包括:应用广泛、容易获取、方案完善、抗原性和组织结构保存良好。缺点包括:抗原位点可能发生修饰,过度固定会干扰抗原修复。

在免疫组织化学中,福尔马林固定组织样本的时间通常为4至48小时,但可能会根据组织类型和预期下游应用不同而变化。一般准则是将组织样本在4%多聚甲醛溶液中固定至少4小时,但可以使用更长的固定时间(24-48小时)以确保完全固定。

值得注意的是,过度固定会干扰抗原修复并改变抗原位点,而固定不足会导致抗原性丧失。最佳固定时间应通过反复试验确定,并通过进行对照染色和评估结果进行验证。在确定最佳固定时间时,还应考虑组织类型、抗原性和预期下游应用等因素。

酒精固定的优点包括:抗原位点的改变更小、一些表位的更好保存和更快的固定时间。缺点包括:组织结构的保留能力下降、某些抗原的潜在损失以及需要特殊的固定方案。

免疫组织化学中组织样本的酒精固定时间长度可能会有所不同,具体取决于组织类型和预期的下游应用,但通常比福尔马林固定短得多。基于酒精的固定,例如乙醇或甲醇,通常在室温下固定5-10分钟,或在-20°C下固定30分钟。

值得注意的是,酒精固定的最佳固定时间应通过反复试验来确定,并通过进行对照染色和评估结果进行验证。在确定最佳固定时间时,还应考虑组织类型、抗原性和预期下游应用等因素。

使用足够量的酒精固定剂来保存组织并避免过度固定非常重要,过度固定可能会干扰抗原修复并改变抗原位点。

固定方法的选择取决于组织的类型和所研究的抗原,以及预期的下游应用。