



## 组织芯片制作实验报告

### 一、实验器材及试剂

#### 1. 实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	武汉俊杰电子有限公司	JT-12S
生物组织自动包埋机	武汉俊杰电子有限公司	JB-P5
石蜡包埋机（冷台）	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
转轮式切片机	徕卡显微系统上海有限公司	HistoCoreBIOCUT
组织摊片机	武汉俊杰电子有限公司	JK-5
烤箱	天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司	GFL125
载玻片及盖玻片	江苏汇达医疗器械有限公司	710510
达科为染色机	深圳市达科为医疗科技有限公司	DP260s
显微镜	NIKON	ECLIPSE E100
载玻片	海门市神鹰实验仪器厂	188109
江丰扫描仪	宁波江丰生物信息技术有限公司	KF-PRO-120

#### 2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	杭州宏达化工仪器有限公司	SJ003614
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023418
石蜡	上海华永石蜡有限公司	熔点（62-64）
苏木素-伊红染液	杭州浩克生物技术有限公司	HK102



---

苏木素分化液	杭州浩克生物技术有限公司	HK2054
苏木素返蓝液	杭州浩克生物技术有限公司	HK2055
中性树脂	国药集团化学试剂有限公司	10004160

---

## 二、实验步骤

### 1. 组织石蜡包埋切片

**1.1 取材：**新鲜组织固定于 4%多聚甲醛 24h 以上。将组织从固定液取出在通风橱内用手术刀将目的部位组织修平整，将修切好的组织和对应的标签放于脱水盒内。

**1.2 脱水：**将脱水盒放进吊篮里于脱水机内依次梯度酒精进行脱水。75%酒精 4h-85%酒精 2h-90%酒精 2h-95%酒精 1h-无水乙醇 I 30min-无水乙醇 II 30min-醇苯 5-10min-二甲苯 I 5-10min-二甲苯 II 5-10min-蜡 I 1h-蜡 II 1h-蜡 III 1h。

**1.3 包埋：**将浸好蜡的组织于包埋机内进行包埋。先将融化的蜡放入包埋框，待蜡凝固之前将组织从脱水盒内取出按照包埋面的要求放入包埋框并贴上对应的标签。于 -20℃冻台冷却，蜡凝固后将蜡块从包埋框中取出并修整蜡块。

**1.4 切片：**将修整好的蜡块置于石蜡切片机上切片，片厚 4 $\mu$ m。切片漂浮于摊片机 40℃ 温水上将组织展平，用载玻片将组织捞起，并放进 60℃ 烘箱内烤片。待水烤干蜡烤化后取出常温保存备用。

### 2. HE 染色

**2.1 石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯I 8min-二甲苯II 8min-二甲苯III 8min-无水乙醇I 5min-无水乙醇II 5min-85%酒精 5min- 75%酒精 5min，自来水洗 2min。

**2.2 苏木素染细胞核：**苏木素染色 6min，盐酸酒精分化 2s，水洗；氨水溶液返蓝 15-30s，水洗；

**2.3 伊红染细胞质：**切片入 95%的酒精脱水 1min，入伊红染液中染色 10-30 s



**2.4 脱水封片：**将切片依次放入 95%酒精 I 5min -95%酒精 II 5min-无水乙醇 I 5min -无水乙醇 II 5min -二甲苯 I 5min -二甲苯 II 5min 中脱水透明，将切片从二甲苯拿出来稍晾干，中性树胶封片。

**2.5 显微镜镜检：**图像采集分析，确定芯片取点部位。

### 3. 组织芯片制作

**3.1** 用芯片制作仪，制作受体蜡膜

**3.2** 用芯片制作仪，根据 HE 图像定位进行取点，并按照芯片矩阵要求，将所取点插入受体蜡膜中

**3.3** 带有取点组织的蜡膜进行融合，制作成组织芯片蜡块

### 4. 组织芯片切片

将修整好的组织芯片蜡块置于石蜡切片机上切片，片厚 4 $\mu$ m。切片漂浮于摊片机 40 $^{\circ}$ C 温水上将组织展平，用载玻片将组织捞起，并放进 60 $^{\circ}$ C 烘箱内烤片。待水烤干蜡烤化后取出常温保存备用。