

## 石蜡切片免疫组化染色步骤

以染色系统PV-9000为例：

1. 切片3微米
2. 72°C烤片1小时
3. 二甲苯脱蜡2缸，10分钟/每缸；  
梯度酒精100%、100%、95%、75%，2分钟/每缸
4. PBS清洗5次，2分钟/每次
5. 高压修复：高压锅内预热EDTA pH8.0/9.0修复液，沸腾后将玻片置于其中，待限压阀转动喷气后开始计时2分30秒，计时的同时将电磁炉从高火调至中火，计时结束后离开热源，自然晾凉20分钟以上  
注：应根据不同的抗体确定不同的修复条件，包括修复液的pH值
6. PBS清洗5次，2分钟/每次
7. 3%过氧化氢，室温孵育10分钟
8. 蒸馏水清洗干净，PAP笔画圈
9. PBS清洗5次，2分钟/每次
10. 滴加适量一抗，37°C 1小时，或常温1小时45分钟，或4°C过夜
11. PBS清洗3-5次，2分钟/每次
12. 滴加适量的检测系统（PV-9000），37°C 20分钟
13. 二管DAB显色，现配现用，5-10min
14. 苏木素复染2分钟（根据苏木素新旧而定）
15. 自来水洗干净
16. 盐酸酒精分化（快速）
17. 根据情况，温水返蓝5分钟
18. 逐级梯度酒精脱水，二甲苯透明、封片

