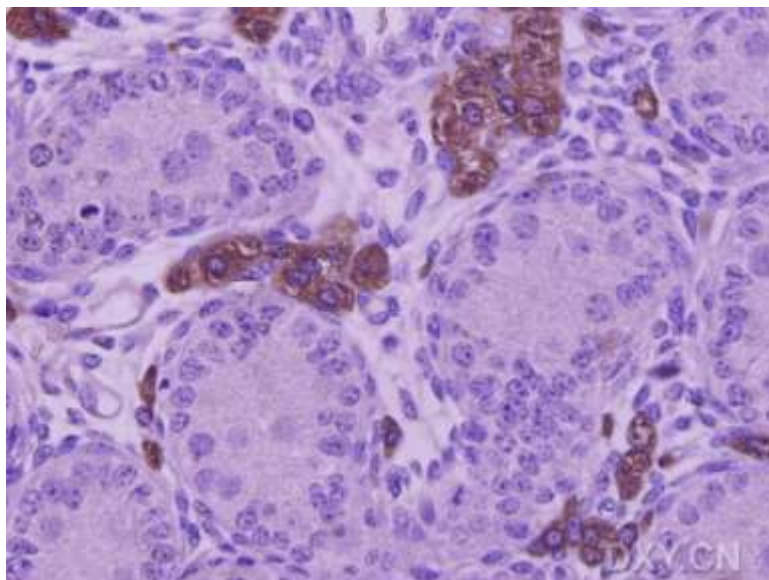


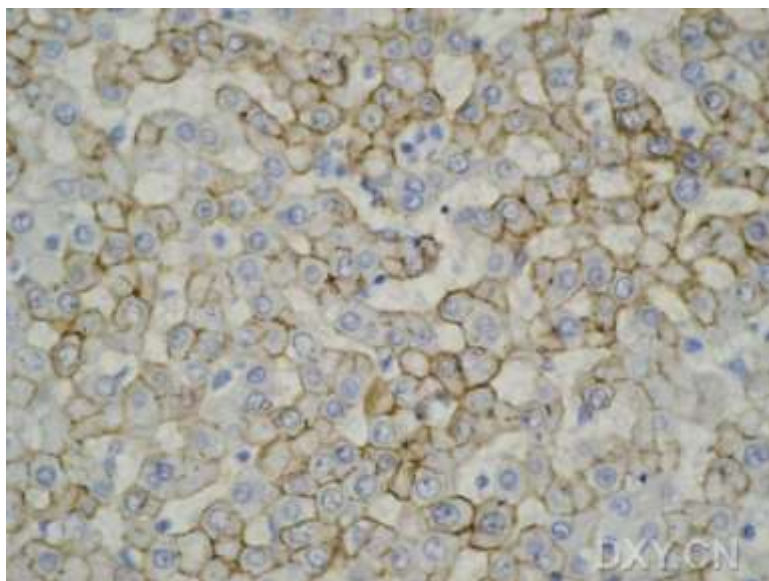
免疫组化经验总结

- 1、**方法操作不难，最大的难处是出现异常结果时如何解决？**这就需要掌握免疫组化实验原理，每一步知道为什么这样做，这样你才敢大胆地改革先前的不对的方法步骤。如抗体孵育条件主要是抗体浓度、温度、时间，这三者一般是相互成反比的（相对），其中浓度是最重要的先决条件，温度决定反应的速度、时间决定反应的量。就拿温度来说，可以有 4 度、室温、37 度，我推荐 4 度最佳，反应最温和，背景较浅；而 37 度反应速度较快，时间较短；室温我不太提倡，除非你每次都把环境温度控制在一定的范围，否则，尽量选择前两者。
- 2、**免疫组化最大的优势是定位和定性。**相比于其他蛋白检测方法，免疫组化具有定性灵敏度高、定位较直接准确，是定位检测分析首选方法。尤其对于有些因子的转位研究十分有用。
- 3、**免疫组化结果定量分析的前提是高质量的染色切片。**免疫组化结果也能定量分析，但必须是背景染色浅而特异性染色较深的情况下，分析最为准确，这种原则可能也是我们日常审稿时判定研究结果的必备条件。
- 4、**免疫组化实验一定要设置阳性对照和阴性对照。**阳性对照一般是用肯定表达这种抗原的切片来做；阴性对照一般是用 PBS 或非一抗替代一抗来进行反应，其余步骤均一致。前者是排除方法和实验系统有无问题；后者是排除有无一抗外的非特异性染色。
- 5、**免疫组化的应用广泛，是当前实验研究的最重要方法之一。**如今发 SCI 论文时，明显感觉仅靠量化的数据来发文章很难，加一些形态学数据或图片，老外十分欢迎，可能是怕你学术造假吧。当然也不能做假阳性或假阴性结果。
- 6、**免疫组化技术掌握与否的鉴定标准是同一切片或不同切片中不同抗原均从摸索浓度或条件而做出优良的染色切片。**我在平时带教中就发现许多研究生把我已经摸索很成熟的反应条件、浓度、方法步骤，重复运用于同一性质的切片和同一种抗体，做出来后就觉得自己已经掌握了免疫组化方法，更换一种抗体后，居然连二抗的种属来源都拿错了。失败往往促进你去思考试验原理和过程，成功有时也加快你自傲。
- 7、**实验方法需要动手+动脑。**如今我还不敢说我在免疫组化什么都知道。我只所以今天敢在这里说这说那，这是因为我经过了反复的动手+动脑，把理论原理运用于实践，在把实践中发现的问题带到理论知识中去解决，最终把理论与实践融会贯通。

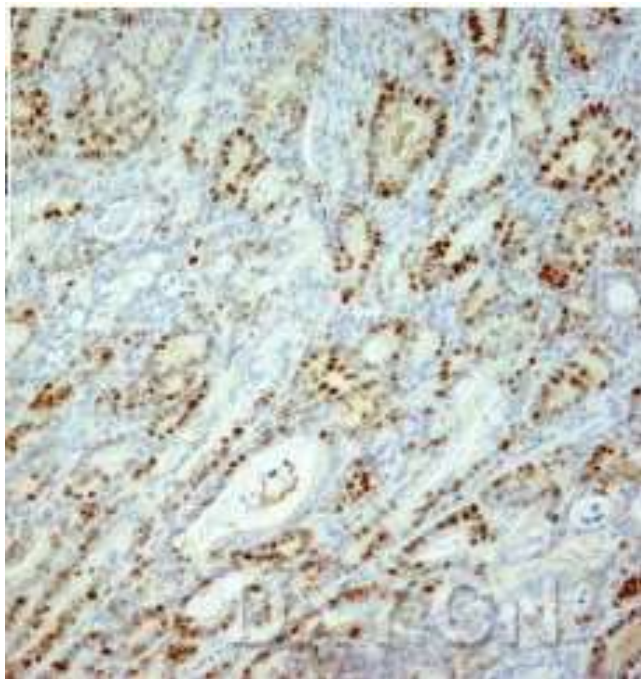
精彩图片 01：胎鼠睾丸组织间质细胞染色，3beta-HSD，胞浆染色。



精彩图片 02：肝脏胞膜蛋白染色——酶免疫组化方法



精彩图片 03：组织 PCNA 胞核蛋白染色——酶免疫组化方法



Download from wiki.medprober.com