

组织冰冻切片OCT包埋剂 (Tissue OCT-Freeze Medium) C1400

描述: 冷室、组织块、包埋剂、切片刀之间的温度平衡于优化的切片温度(optimum cutting temperature, OCT)附近, 是获得高质量冰冻切片的保证。不同的组织因构成各异而具有不同的OCT温度。当冰冻组织在接触刀刃的瞬间, 局部温度短暂升高发生局部融化; 随后切开的组织薄片暴露于冷室被再次骤冷冰冻。这种融化-冰冻温度变化是切片皱褶或断裂的内在原因, 在此基础上切片的软硬度和厚薄度进一步影响皱褶产生⁽¹⁾。在切片过程中, 冰冻包埋剂也须历经与组织类似的温度变化, 这就要求包埋剂必须具有与组织块相近的冰冻速度和软硬韧度。

普利莱冰冻组织切片OCT包埋剂是由高分子聚合物组成的无色透明粘稠液体, 骤冷时固化, 其冰冻速度和软硬韧度与组织细胞相近, 因而能保证优化的OCT温度, 并具有支持填充、减少皱褶和断裂等作用。可任意添加于切片机的样品架以支持和固定样品。

特点:

- 1、支持超薄和超厚(2~100 μm)冰冻切片并减少皱褶和断裂
- 2、不影响后续免疫组化、原位杂交、病理染色等操作
- 3、可经由水或PBS冲洗完全去除, 是理想的组织冰冻包埋剂。

适用: 组织和培养细胞的冰冻包埋固定。用于临床快速病理染色诊断、免疫组化、原位杂交。

组成: 120 ml, 4℃ 1 年。无色透明粘稠液体, 温度降低时逐渐变粘稠并固化。

使用前标本准备:

冰冻切片标本可采用 (1) 新鲜组织, 特点是快速, 但未用完的包埋组织块不能保存; (2) 使用经典方法 10% 甲醛或 4% 多聚甲醛室温 2~10 分钟固定过的组织, 优点是既不影响后续步骤, 包埋组织块又可长期冰冻保存, 随时再用, 缺点是步骤稍繁。(3) 培养细胞, 800g 离心 10 分钟收集培养细胞, 用吸头或针头拨出细胞沉淀块, 放入 OCT 包埋剂内。

应避免采用降低组织冰点的甲醇乙醇固定。本产品说明书不提供关于组织取材、渗透、固定、冰冻切片等技术信息。用户应阅读冰冻切片操作手册, 参考各种常规技术方法。

使用方法:

1. OCT 包埋: 用水或 PBS 冲洗固定的组织块, 用吸水纸吸去液体。在盛标本的包埋模子内, 挤出适量的包埋剂, 放入组织和细胞沉淀块, 加包埋剂完全埋没组织块。可用 2 层铝箔纸折叠成简易的模子。如有气泡可用针头或吸头吸出。
2. 冰冻: 将盛有组织细胞和包埋剂的模子, 正置于切片冷室内冰冻 10 分钟。此时, 包埋剂为乳白色固体。包埋剂和组织冷冻时体积略有膨胀, 因此模子应正置, 由底部向顶部进行冰冻。也可将 OCT 包埋的组织置于干冰或液氮, 或放入 -40~-70 °C 冰箱冰冻固化保存, 使用前取出置于切片冷室内平衡温度(否则损坏刀)。

3. 切片: 可在切片机的组织卡盘(chuck)上加少许包埋剂并在其固化前嵌入组织块, 然后再于组织周围加入少许包埋剂使其稳定。进行常规切片, 厚度范围 2~100 μm 。

4. 收片后, 用适量水或PBS冲洗切片3次, 每次2~3分钟, 洗除包埋剂。而后可进行常规组化染色、病理染色、原位杂交。未用完的组织块可冷冻储存。

附表为新鲜组织的冰冻切片OCT温度。固定过的组织的OCT温度升高相应5~10 $^{\circ}\text{C}$

组织	$^{\circ}\text{C}$	组织	$^{\circ}\text{C}$	组织	$^{\circ}\text{C}$
子宫刮出物	-7	肾	-15	子宫颈	-20
脑	-10	肺	-16	卵巢	-20
肝	-10	肌肉	-16	前列腺	-20
脾	-10	结缔组织	-16	消化道	-20
睾丸	-10	皮肤	-16	骨髓	-20
甲状腺	-10	心	-18	连脂肪皮肤	-25
唇	-13	胰腺	-20	乳腺	-30
淋巴结	-15	子宫	-20	网膜脂肪	-35

通常折中采用-20 $^{\circ}\text{C}$ 。肝脑脾等组织的OCT切片温度应在-10 $^{\circ}\text{C}$, 否则易碎。脂肪或含脂肪多的组织的OCT切片温度更低, 否则易皱褶。

常见问题及解决方案:

易碎	冷冻过快, 或标本太大
组织、包埋块从支架脱落	包埋剂不足, 组织在包埋剂中的位置过偏
组织向前推进但不能顺利切片	刀和组织未固定紧, 刀的角度不合适, 组织未完全冷冻
切片卷曲	Anti-roll plate 不干净, 切片太薄, 刀钝
切片撕裂	组织过分冷冻, 刀口受损、不洁
切片融化	冷室和刀的温度不正确
刀上有雾	切片机开盖时间过长
切片粘在 anti-roll plate	温度不正确, anti-roll plate 不洁
切片歪向一侧	刀口钝、受损, anti-roll plate 受损
切片从玻片脱落	没用玻片粘附剂, 切的是固定组织、脂肪含量高的标本, 操作粗糙
切片水平裂痕	切片时标本太冷

参考文献:

Pearse AGE. *Histochemistry, theoretical and applied, vol. 1: preparative and optical technology*. 4th Ed. Edinburgh, UK: Churchill Livingstone, 1980.