

實驗外科免疫螢光染色服務簡介

原理：免疫螢光染色是利用免疫抗體(Ab)對抗原(Ag)的專一性結合來偵測目標分子，藉由免疫抗體上標記螢光物質並進行相關染色流程，最後在螢光顯微鏡下觀察拍照，利用螢光物質受特定波長輻射激發產生的螢光呈色，我們可以檢視目標分子在細胞組織內的表現與分佈。多重螢光染色是同時使用各別標記不同螢光物質的多種免疫抗體進行螢光染色，以瞭解細胞組織內多種抗原分子間相互作用與彼此關聯性的信息。

方法：免疫螢光染色的方法有直接法(Direct)與間接法(Indirect) 2種，直接法是使用帶有螢光物質的初級抗體與抗原結合，間接法是先使用初級抗體與抗原結合再將帶有螢光物質的二級抗體結合到初級抗體上，2種方法各有其優點，可依據實驗需求與現有資源亦可併用2種方法來完成免疫螢光染色。

組織檢體製備：免疫螢光染色的組織檢體必需先製作成組織切片再進行染色。組織切片的種類有冰凍組織切片與石蠟組織切片2種，建議優先製作使用石蠟組織切片，因其細胞組織結構保存完整。染色結果的呈現較完美，冰凍組織切片易在冰凍過程中因水分形成冰晶刺破細胞造成細胞組織結構破壞，且染色過程冰凍組織切片容易剝落掉片及高溫變形。均嚴重影響染色結果的呈現。

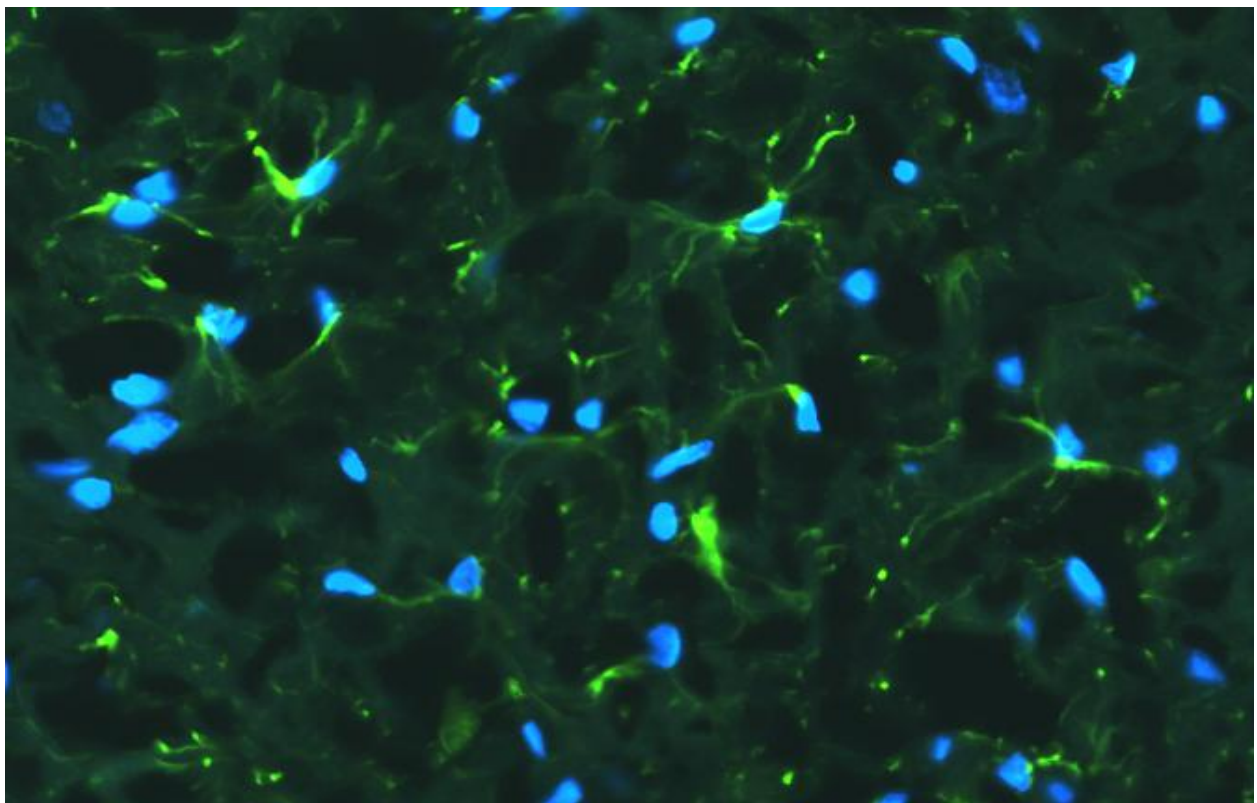
螢光標記：介紹幾種常用螢光標記，選擇時需依據現有的儀器設備，例如螢光顯微鏡的濾片種類規格來做考量

1. DAPI 螢光染劑：DAPI 是直接與 DNA 強力結合的螢光染劑，經紫外光 360nm 波長激發後可在細胞核發散出藍色螢光。
2. FITC 螢光標記：最大吸收光波長為 490nm，最大發射光波長 520~530nm，呈現明亮的黃綠色螢光。
3. Rhodamine 螢光標記：最大吸收光波長為 535nm，最大發射光波長 595~600nm，呈橘紅色螢光
4. TRITC (Texas Red) 螢光標記：最大吸收光波長為 550nm，最大發射光波長為 620nm，呈橙紅色螢光。
5. CY3 螢光標記：最大吸收光波長為 525~550nm，最大發射光波長為 620nm，呈桃紅色螢光。

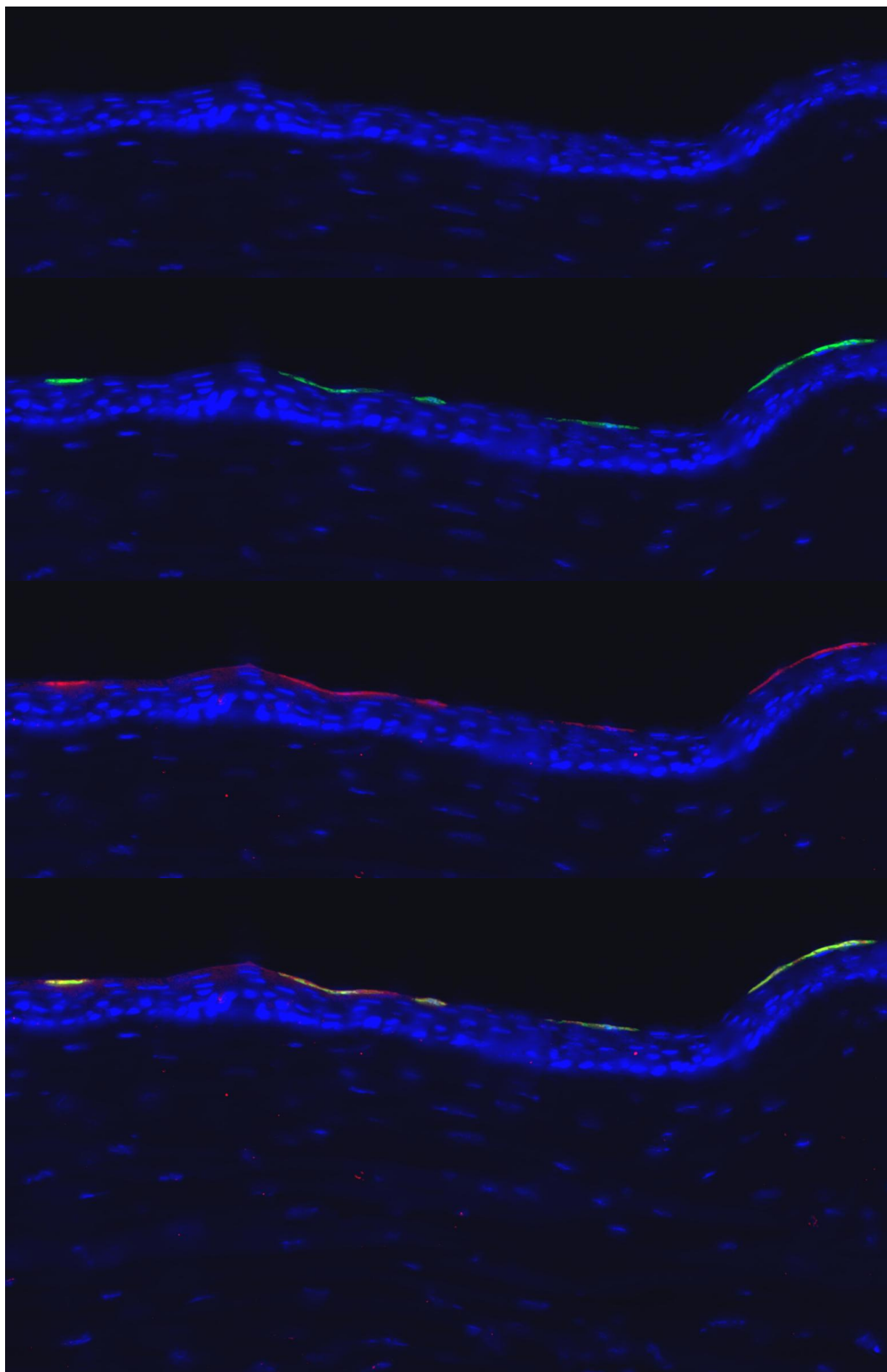
免疫螢光染色執行的細項說明：

1. 本科目前提供螢光單染與螢光雙染服務，螢光染色時本科會加做DAPI核染色，申請者請自備需要的初級抗體與螢光抗體(請提供抗體說明書)。
2. 目前免疫螢光染色仍無法克服紅血球與血液所造成的非特異性螢光表現，因此動物實驗時需做灌流處理及避免選用淤血組織。
3. 染色申請時，請申請方研究人員共同討論組織標本、螢光抗體與抗原螢光表現方式的各項細節，以利螢光染色的執行。
4. 螢光染色的執行流程是先進行測試片的抗體濃度試染，染色結果經申請方確認滿意後，再進行正試片的螢光染色。
5. 螢光染色完成後，因螢光會有衰退與變質的情形，建議一周內要完成觀察與拍照，申請方可取回自行拍照處理，本科亦可以提供全影像螢光掃描服務，協助呈現最佳螢光染色的結果。
6. 本科全影像螢光掃描機目前配置的濾片種類規格，可執行DAPI、FITC、Rhodamine、TRITC、Texas Red、CY3等螢光玻片掃描。

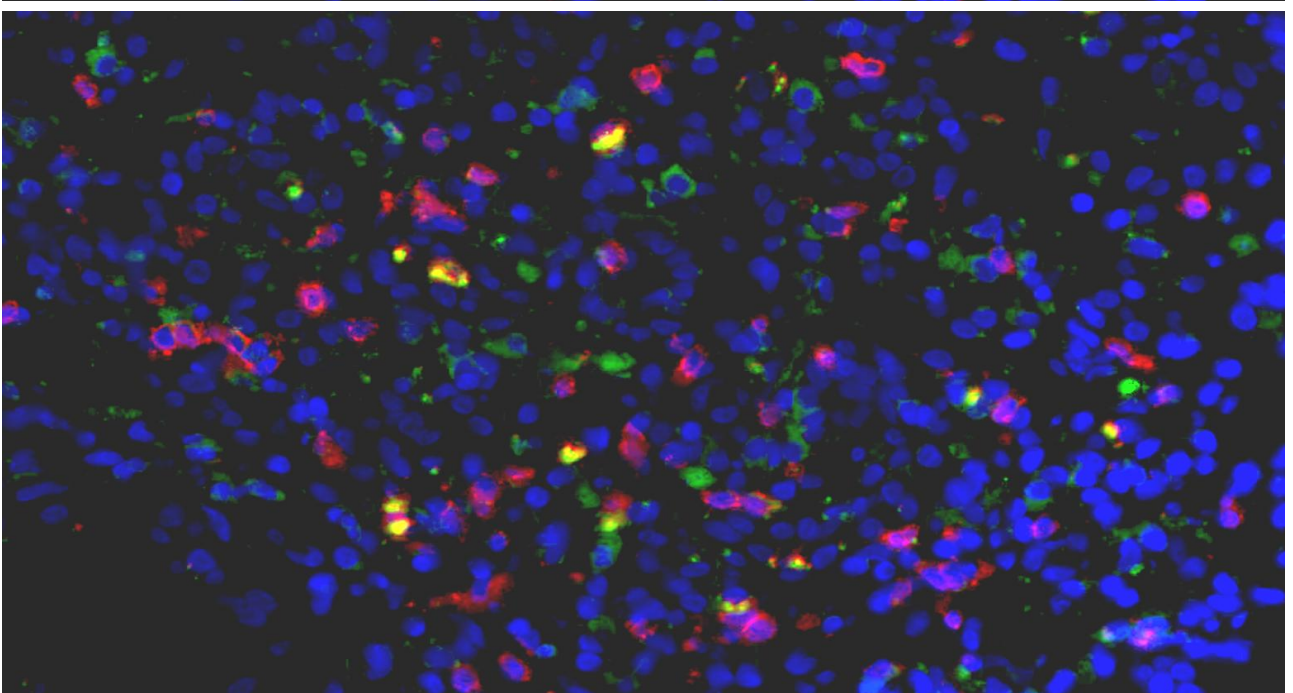
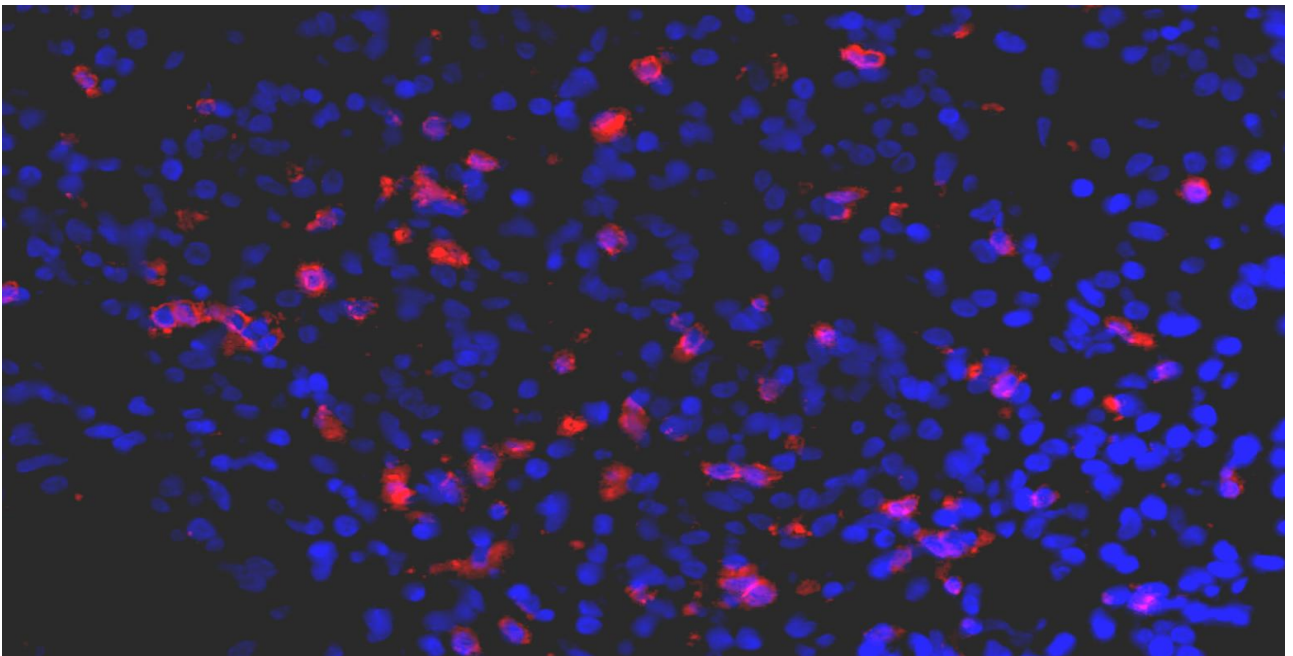
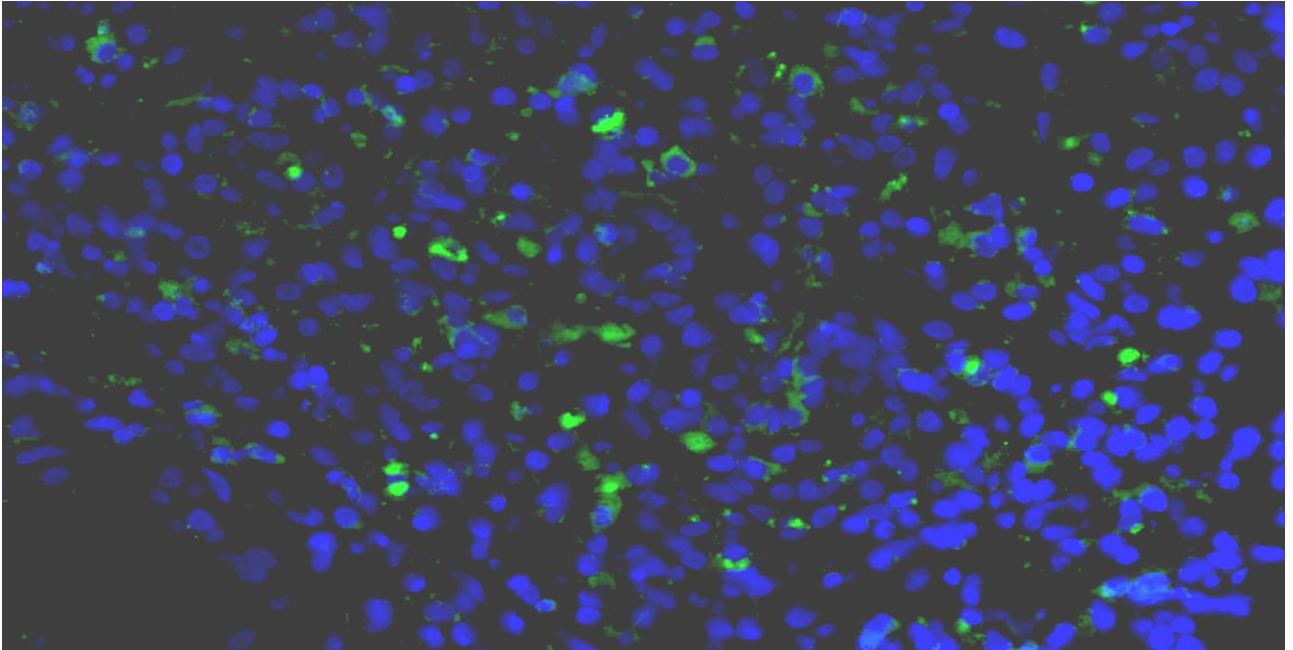
實驗外科螢光單染執行圖例



實驗外科螢光雙染執行圖例



實驗外科螢光雙染執行圖例



實驗外科免疫螢光染色申請表

申請人：

申請日期：

單位：

電話：

繳費方式： 繳現金 研究經費支付 科成本轉帳

服務項目	院內	院外	
螢光單染 (Direct method)	\$600/片 (片)	\$800/片 (片)	Tissue array 片子 另加 500 元/片
螢光單染 (Indirect method)	\$800/片 (片)	\$1000/片 (片)	Tissue array 片子 另加 500 元/片
螢光雙染 (Direct method)	\$800/片 (片)	\$1000/片 (片)	Tissue array 片子 另加 500 元/片
螢光雙染 (Indirect method)	\$1000/片 (片)	\$1200/片 (片)	Tissue array 片子 另加 500 元/片
	總計金額：		元

說明：

1. 螢光染色時本科會加做 DAPI核染色，申請者請自備初級抗體與螢光抗體（請提供抗體說明書）。
2. 染色申請時請申請方研究人員共同討論組織標本、螢光抗體與抗原螢光表現方式的各項細節，以利螢光染色的執行。
3. 螢光染色的執行流程是先進行測試片的抗體濃度試染，染色結果經申請方確認滿意後，再進行正試片的螢光染色。
4. 螢光染色完成後，因螢光會有衰退與變質的情形，建議一周內要完成觀察與拍照，申請方可取回自行拍照處理，本科亦可提供全影像螢光掃描的服務。

<p>實驗外科承辦人：</p> <p>醫檢師蔣湘蓉 分機 3021</p>	<p>實驗外科主任：</p>
---	----------------------------