

免疫组织化学LSAB和ABC法敏感性比较

吴惠茜 林汉良 宗永生

(病理学教研室)

提 要 继免疫组化ABC法之后近年又出现了LSAB法 (labeled streptavidin biotin method, 链菌素-生物素标记法), 作者用不同稀释度的第一抗体作LSAB及ABC染色, 对这两种方法进行敏感性对比, 结果表明: LSAB法比ABC法更为敏感。用LSAB法时, 第一抗体稀释度可比ABC法高2~3倍以上, 孵育时间比ABC法大大缩短, 且背景清晰, 是理想的具有广阔应用前景的新一代免疫酶标法。

关键词 免疫组化; 卵白素-生物素复合物法; 链菌素-生物素标记法

中图分类号 R-361

近20年来, 免疫组织化学染色方法在有条件的病理实验室已作为常规方法之一, 继ABC法之后晚近又出现了LSAB法 (labeled streptavidin biotin method)。这种方法比ABC法更为敏感、快捷, 目前国内尚未广泛开展应用。根据我们的实验工作经验, 当组织内抗原量充分时, 用适量的第一、第二抗体浓度和ABC或LSAB试剂染色, 两种方法均能得到良好的染色结果, 而不易比较两者的敏感性, 但当组织内抗原量较少或第一抗体浓度逐渐稀释时, ABC与LSAB两种方法敏感性的差别就显示出来。本文用一系列不同浓度的第一抗体, 配以相同的第二抗体, 作ABC和LSAB方法的敏感性比较。

材料与方 法

组织切片及第一抗体

1. 尖锐湿疣 80例。使用第一抗体为兔抗人HPV抗血清 (DAKO公司B580), 免疫组化染色显示细胞核内人类乳头瘤病毒核壳抗原 (HPV-Ag) (图1)。

2. 上皮性肿瘤 (癌) 35例。使用第一抗体为鼠抗人细胞角蛋白 (DAKO公司M821), 免疫组化染色显示癌细胞胞浆角蛋白 (图2)。

3. 淋巴结及淋巴瘤 50例。使用第一抗体为鼠抗人白细胞共同抗原 (DAKO公司

M701), 免疫组化染色显示淋巴细胞的胞膜抗原 (图3)。

ABC试剂盒: 美国VECTOR公司PK-4001、PK-4002。

LSAB试剂盒: (DAKO公司P397、K680)。

染色步骤 染色步骤见表1。

表1 ABC法和LSAB法的染色步骤比较

ABC法	LSAB法
1. 常规脱蜡至水	与ABC法相同
2. 正常血清15min	5 min
3. 第一抗体30~60min	10~20min
4. 第二抗体45min	10min
5. ABC复合物45min	LSAB复合物10min
6. DAB显色	DAB显色

结 果 与 讨 论

不同的第一抗体系列稀释度, 及ABC与LSAB法结果见表2。

从表2中可看出, 当第一抗体稀释度较低时, LSAB与ABC法的敏感性差别不明显, 但当稀释度逐渐升高时, 两种方法的不同敏感性就显示出来, 无论是显示胞核、胞浆或胞膜抗原, LSAB法均比ABC法敏感, 尤其在显示抗原量较少的胞膜抗原时 (LCA), 两者的敏感性差别容易表现出来。根据我们的经验, LSAB的敏感性比ABC高还表现在当组织内抗原量较

表2 不同浓度的第一抗体 ABC 和 LSAB 法染色结果

抗体与染色	n	浓 度 与 结 果				
		1/600	1/1 200	1/1 800	1/2 000	1/3 000
1. HPV-Ag	80	1/600	1/1 200	1/1 800	1/2 000	1/3 000
ABC 法		+++	++	+	+	±
LSAB 法		+++	++	+	+	+
2. Keratin	35	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1 600
ABC 法		+++	++	+~++	+	±
LSAB 法		+++	+++	++~+++	+~++	+
3. LCA	50	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800
ABC法		+++	++	+	±	-
LSAB法		+++	+++	++~+++	++	+

少时,用最适工作浓度的第一抗体,LSAB 法的阳性率高于ABC法。

LSAB 法之所以比 ABC法敏感,首先是因为 LSAB 的过氧化酶(或碱性磷酸酶等)直接结合在链菌素分子上,形成链菌素-过氧化酶复合物,比 ABC 中的卵白素-生物素-过氧化酶复合物的分子量小,在组织内具有更强的穿透能力。其次是因为链菌素与生物素的化学亲和力比卵白素更强,因而能与第二抗体更迅速更牢固地结合。由于LSAB法比 ABC 法更为敏感,抗体孵育时间比 ABC 法短,大大节省了染色时间。应用 LSAB 法时,第一、二抗体的工作浓度比 ABC 法稀释几倍,既缩短了染色时间又

可节省抗体,对组织内含量少的抗原检测率较高,且背景清晰,是一种比 ABC 法更优越、值得推广的新型免疫组化试剂。

(本文图 1~3 见插图 2)

参 考 文 献

1. DAKO Quick Staining Kits, K685-k687. DAKO LSAB Kits, K680-K684
2. Giorno R. A comparison of two immunoperoxidase staining methods based on the avidin-biotin interaction. *Diagn Immunol* 1984;2:161

(1992-09-01 收稿 1992-12-26 修回)

COMPARISON OF IMMUNOHISTOCHEMICAL METHODS: ABC AND LSAB METHODS

Wu Huixi

Lin Hanliang

Zong Yongsheng

(Department of Pathology)

The ABC (avidin biotin complex) method has been presented as being less sensitive than the LSAB (labeled streptavidin biotin) method as presented in the field of immunohistochemistry. Using different dilutions of primary antibodies, the sensitivities of the two methods were compared. The result showed that in the LSAB method, primary antibody may be diluted 2~3 times, and the incubation time be shortened as compared with the ABC method, and the background staining was lower. The LSAB method is a new desirable immunohistochemical method.

Key words immunohistochemistry; ABC method; LSAB method

免疫组织化学 LSAB 和 ABC 法敏感性比较 (正文见第117页)

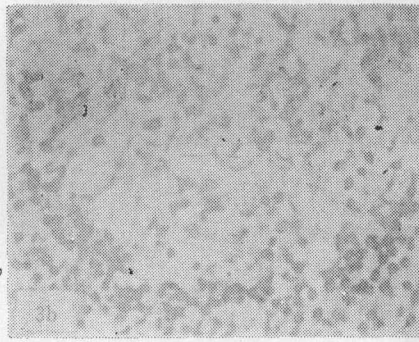
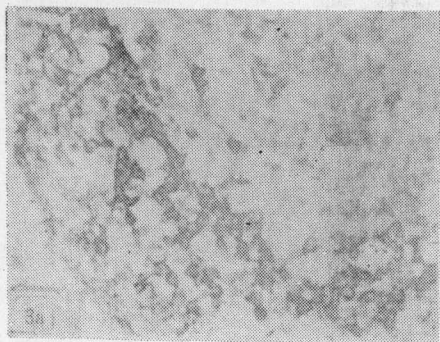
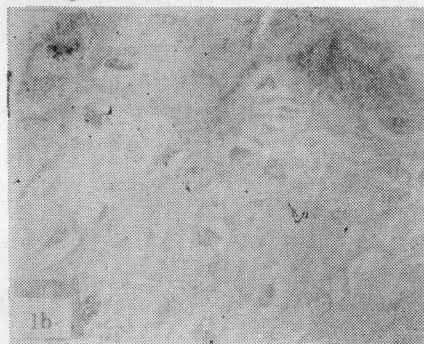


图1 人乳头瘤病毒核壳抗原 (HPV-Ag)

第一抗体稀释度 1:2 000 a.LSAB法 b.ABC法

图2 淋巴结转移癌显示癌细胞角蛋白 (Keratin)

第一抗体稀释度 1:800 a.LSAB法 b.ABC法

图3 淋巴组织显示白细胞共同抗原(LCA)

第一抗体稀释度 1:200 a.LSAB法 b.ABC法

a	1	b
a	2	b
a	3	b