

COL3A1 基因断裂重组检测试剂盒（荧光原位杂交法） 产品说明书

【产品名称】

通用名称：COL3A1 基因断裂重组检测试剂盒（荧光原位杂交法）

英文名称：COL3A1 Break Apart FISH Probe Kit

【包装规格】20 人份/盒，干粉型

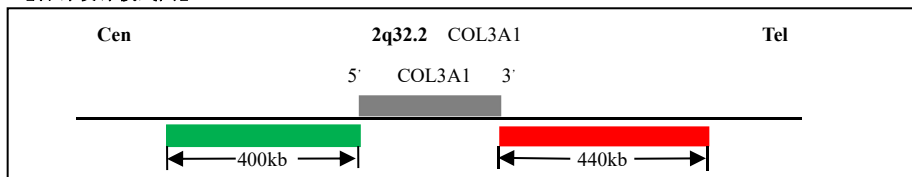
【预期用途】

荧光原位杂交探针主要用于检测与先天性疾病和癌症相关的染色体改变，辅助预测肿瘤治疗效果及预后，选择最有效的治疗方案，提高病人的生活质量和延长生命，覆盖病理学、遗传学和血液学的分子诊断领域，本产品用于 COL3A1 基因断裂重组检测。

【检验原理】

FISH（荧光原位杂交）利用荧光标记的 DNA 探针与标本 DNA 上的互补区域杂交的一种分子检测技术，在荧光显微镜下，DNA 探针上的荧光基团在一定波长的激发光激发后会发出一定颜色的荧光信号，从而评价样本中基因状态，基本操作步骤包括：样本制备，样本预处理，DNA 和探针共变性和杂交，杂交后洗涤、复染、结果判读。

【探针设计模式图】



【主要组成成份】

名称	组成	规格	数量
COL3A1 双色探针	COL3A1,3 探针、COL3A1,5 探针	20 人份/管	1 管
杂交液	甲酰胺、硫酸葡聚糖等	200μl/管	1 管
染色液	DAPI、甘油等	300μl/管	1 管

试剂盒未提供但必需的实验试剂：二甲苯或二甲苯替代剂、无水乙醇、纯水、原位杂交样本预处理试剂（酶缓冲液、预处理液、洗液、胃蛋白酶）

【储存条件及有效期】

避光保存在-20℃±5℃，有效期 1 年。产品溶解后和开瓶使用后均不影响产品有效期；溶解后或使用完毕后于

-20℃±5℃保存。

生产日期及有效期见标签

【适用仪器】

本试剂盒结果分析在荧光显微镜下进行，探针选用橙绿荧光标记，以下是荧光的激发、发散波长信息：

绿色荧光：激发波长为 496nm，发散波长为 520nm

橙色荧光：激发波长为 552nm，发散波长为 576nm

DAPI：激发波长为 340nm，发散波长为 488nm

【样本要求】

适用标本类型：中性福尔马林固定石蜡包埋的一般石蜡组织样本切片

切片厚度：建议切片厚度 3-5 μm

样本保存：制作好的石蜡切片建议立即进行实验，否则请于-20℃±5℃保存，所选蜡块保存时间一般不应超过 2 年。

【检验方法】

一、实验前准备

1. 试剂准备

（1）干粉溶解

取出探针，依次加入 5μl 纯水和 200μl 杂交液至探针管中，震荡混匀，短暂离心后，放入 37℃水浴至探针完全溶解（约 5-10 分钟），备用。

（2）预处理液预热

实验开始前，打开恒温水浴锅，调节水温至 80±1℃，取 50 ml 预处理液于染缸中，并放入水浴锅，预热至缸内溶液温度为 80±1℃。

（3）胃蛋白酶工作液配制

实验开始前，打开恒温水浴锅，调节水温至 37±1℃，取 50 ml 酶缓冲液于染缸中，并放入水浴锅，预热至缸内溶液温度为 37±1℃。酶消化前将 50mg 的蛋白酶加入到 37±1℃的酶缓冲液中，充分溶解备用。

（4）洗液（次日准备）

在洗涤开始前，打开恒温水浴锅，调节水温至 73±1℃，取 50 ml 洗液于染缸中，并放入水浴锅，预热至缸内溶液温度为 73±1℃；另取 50 ml 洗液于染缸中，室温放置。

二、实验步骤

（一）样本预处理

- 1、将玻片放在杂交仪上 65℃预热 5 分钟；
- 2、将玻片浸入二甲苯或二甲苯替代剂中脱蜡 2 次，各 10-15 分钟；
- 3、将玻片浸入无水乙醇中脱水 2 次，各 5 分钟；
- 4、将玻片依次浸入 85%、70%乙醇、纯水中，各 1 分钟，取出玻片，用无尘纸小心吸去玻片上的残余溶液；
- 5、将玻片浸入 80±1℃预处理液中，处理 30 分钟；
- 6、将玻片浸入纯水中，处理 1 分钟后取出，用无尘纸小心吸去玻片上的残余溶液；
- 7、将玻片浸入 37±1℃蛋白酶工作液中消化 25 分钟(根据玻片厚度或样本类型可调整消化时间 10-60 分钟)
- 8、将玻片依次浸入纯水、70%，85%，100%乙醇中，脱水各 1 分钟；
- 9、室温干燥玻片，备用。

（三）共变性及杂交（避光条件下进行）

- 1、用钻石笔在玻片背面画出样本区域；
- 2、将保湿条在纯水中浸润后放置在杂交仪的对应卡槽中，确保杂交仪表面干净无物；
- 3、打开杂交仪，设置或选择以保存的程序：75℃变性 5 分钟，37℃杂交过夜（16-20 小时）；
- 4、从-20±5℃冰箱取出探针，震荡混匀，瞬时离心；
- 5、取 10μl 探针，滴加到玻片的目标区域上，盖上盖玻片，注意避免气泡，并用封片胶密封盖玻片边缘；
- 6、将封好的玻片，放到杂交仪上，启动变性杂交程序；

（四）杂交后洗脱及复染（避光条件下进行）

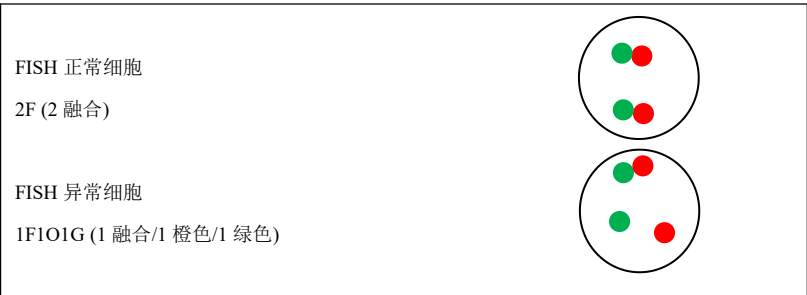
- 1、杂交结束后，在杂交仪中取出玻片，用镊子去掉封片胶；
- 2、将玻片浸入室温洗液中，轻轻涮洗，去除盖玻片；
- 3、将玻片浸入 73±1℃洗液中，浸泡洗涤 2 分钟；
- 4、将玻片浸入 70%的酒精溶液中，洗涤 1 分钟；
- 5、将玻片取出，暗处自然干燥玻片；
- 6、加 10μl 染色液至样本中心区域，盖上盖玻片并压紧，-20±5℃保存 20 分钟后在荧光显微镜下观察；

【FISH 结果观察】

- 1、在荧光显微镜下选用合适的滤光片组观察结果；
- 2、在 10×物镜下寻找到区域，在 100×物镜下计数；
- 3、调整焦距，寻找合适的区域，要求细胞核边界完整，染色液染色均匀、核无重叠，信号点清晰；
- 4、在选择区域内，在核的不同层次找到所有信号点，对融合信号、单独的橙色信号和绿色信号进行计数，当橙色（O）和绿色（G）信号点重叠在一起或两者间的距离小于一个信号点直径时计为 1 个融合信号（黄色，

F），对于没有信号，信号弱的细胞核不计数；

常见信号类型判读



注：完成杂交的玻片置于-20℃避光储存。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于科研。
2. 实验前请仔细阅读本说明书。
3. 请在有效期内使用。
4. 使用过的试剂和样本，应视为生物制品废弃物妥善处理。

【基本信息】

备案人/生产企业名称：苏州百远生物科技有限公司

住所/生产地址：苏州工业园区双圩路 9 号 1 幢

联系方式：0512-88856768

售后服务单位名称：苏州百远生物科技有限公司

【说明书修改日期】