



原位杂交样本预处理试剂盒说明书

【产品名称】原位杂交样本预处理试剂盒

【包装规格】2 次/盒；5 次/盒；10 次/盒

【预期用途】用于组织或细胞样品，增强细胞膜的通透性。

【检验原理】

实体瘤样本通常被固定和包埋以保持其细胞和组织的形态。因此，经福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片（FFPE 样本）通常是进行免疫组化和原位杂交检测所能获得的唯一组织样本。对这些组织样本进行检测能提供进一步的信息。

为了使 FFPE 样本能够用于原位杂交实验，必须对组织切片样本进行脱蜡及杂交前预处理，提高组织通透性，使探针和目标 DNA 能充分接触并杂交。

【主要组成成分】

规格	试剂盒组成	数量	份数
2 次/盒	预处理液	100ml	1
	酶缓冲液	100ml	1
	胃蛋白酶	50mg	2
	洗液	100ml	2
5 次/盒	预处理液	250ml	1
	酶缓冲液	250ml	1
	胃蛋白酶	50mg	5
	洗液	250ml	2
10 次/盒	预处理液	500ml	1
	酶缓冲液	500ml	1
	胃蛋白酶	50mg	10
	洗液	500ml	2

注意：硫氰酸钠有毒，避免使其接触眼睛、皮肤和衣服。一旦接触，应以大量清水冲洗。

【未提供但需要的其他材料或试剂】

纯水、无水乙醇、二甲苯或二甲苯替代试剂、1.0N 的盐酸(HCl)、1.0N 的氢氧化钠(NaOH)、

考普林染缸、水浴锅。

【存储条件和有效期】

本试剂盒储存于 2-8℃ 冷藏环境，有效期 12 个月。请勿在已过有效期后使用（生产日期和有效期见产品包装）。

【适用仪器】

水浴箱，原位杂交仪，荧光显微镜，普通光显微镜。

【样本要求】

经福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片（FFPE 样本）。

【检验方法】

一、 准备步骤

1、预处理液

将 50 ml 预处理液倒入染缸中，在切片脱蜡之前将染缸置于 80±1℃ 水浴中。确保在使用前缸内溶液温度为 80±1℃，使用一天后丢弃。

2、蛋白酶溶液

使用前先确定蛋白酶缓冲液的 pH 值。如有必要，使用 1.0N 的 HCl 或者 1.0N 的 NaOH 调节 pH 至 2.0。将 50ml 蛋白酶缓冲液倒入染缸并置于 37±1℃ 水浴中，确保在使用前缸内溶液温度为 37±1℃。样本脱蜡前将 50mg 的蛋白酶加入到 37±1℃ 的蛋白酶缓冲液中。充分溶解备用，胃蛋白酶工作液使用一天后应丢弃。

3、洗液

准备 2 个染缸并各加入 50ml 的洗液。置于常温和 73±1℃ 水浴中备用，在使用前用 pH 计检测其 pH 值。如有必要，使用 1.0N 的 HCl 或者 1.0N 的 NaOH 调节 pH 至 7.0-7.5。在室温下使用。使用一天后应丢弃。

二、 实验步骤

（一）预处理步骤

1、制片（以下为经福尔马林固定 24—48 小时、石蜡包埋组织样本的切片方法）

- 用切片机切成 3-5 μm 厚的石蜡切片；
- 将石蜡切片置于 40℃ 的超纯水中漂浮展开；
- 将石蜡切片附在带正电荷的玻片上；
- 风干玻片后 56℃ 过夜烤片备用。

2、脱蜡

- a) 玻片 65℃ 预热 5 分钟；
- b) 室温下二甲苯或二甲苯替代剂脱蜡两次，各 15 分钟；
- c) 室温下无水乙醇中脱水两次，各 5 分钟；
- d) 梯度复水 85%，70%乙醇，纯水，各 1 分钟；
- e) 取出玻片，小心吸去玻片上的残余溶液。

3、预处理

- a) 在 80℃ 预处理液中处理 10-30 分钟（对于固定时间较长的组织可适当延长时间）；
- b) 取出玻片，纯水处理 1 分钟，取出后小心吸去玻片上的残余溶液。

4、蛋白酶消化(30 分钟，根据玻片厚度或样本类型可调整消化时间 20-50 分钟)

- a) 将玻片置于蛋白酶溶液（见准备步骤）中 37℃ 消化 25 分钟；
- b) 纯水浸泡 1 分钟；
- c) 70%，85%，100%乙醇脱水各 1 分钟；
- d) 室温干燥玻片，备用。

（二） 杂交后洗脱步骤

- a) 去除树胶，放入第一缸杂交后洗液中，室温，浸泡（2-5min）除去盖玻片；
- b) 取出玻片，放入第二缸杂交后洗液中，73±1℃，漂洗 2 分钟；
- c) 取出玻片，吸取残留液体，暗处自然干燥玻片，备用。

注：染缸放入 73±1℃ 的水浴中至少半小时以上，确保使用前杂交后洗液的温度达到 73±1℃。洗液使用过一天后就应丢弃。

【检验结果的解释】

在显微镜下观察荧光或细胞染色信号，效果不能达到细胞分散、细胞核完整，信号清晰、明亮、可判读时进行再确认。

【产品性能指标】

- a) 本试剂盒用于石蜡包埋的组织样本；
- b) 经本试剂盒处理的组织样本中细胞通透性好，最大程度增加探针和目标 DNA 接触机会。

【注意事项】

- a) 本试剂仅用于科研，供专业人士使用，严格按照说明书操作。
- b) 使用过的试剂和样本，应视为医疗废弃物妥善处理。
- c) 该试剂盒仅用于经福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片（FFPE 样本）。

【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

生产备案凭证编号：/

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】

/

【说明书核准及修改日期】

2017-12-8