



荧光原位杂交样品处理试剂说明书

【产品名称】 荧光原位杂交样品处理试剂

【包装规格】 5次/盒；10次/盒

【预期用途】 用于荧光原位杂交（FISH）检测过程中主要用于细胞样本的处理。

【检验原理】

荧光原位杂交样品处理试剂盒主要对细胞样本进行前处理，增加细胞的通透性，暴露细胞核，以此来增加探针与靶 DNA 的结合机会，提高杂交效率。

【主要组成成分】

规格	试剂盒组成	数量	份数
5次/盒	预处理液	250ml	1
	酶缓冲液	250ml	1
	胃蛋白酶	25mg	1
	洗液 1	250ml	1
	洗液 2	250ml	1
10次/盒	预处理液	500ml	1
	酶缓冲液	500ml	1
	胃蛋白酶	25mg	2
	洗液 1	500ml	1
	洗液 2	500ml	1

【未提供但需要的其他材料或试剂】

纯水、无水乙醇、封片胶、盖玻片。

【存储条件和有效期】

本试剂盒储存于 2-8°C 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）。

产品运输采用常温运输。

【适用仪器】

水浴锅、杂交仪、荧光显微镜。

【样本要求】

细胞样本，如骨髓细胞、外周血细胞、羊水细胞等。

【检验方法】

一、 试验前准备

（一） 试剂准备

1、胃蛋白酶母液配制

取 1 管 25mg 胃蛋白酶用 500μl 纯水溶解成 50mg/ml 的胃蛋白酶母液，充分溶解后备用，用完后保存于 -20±5°C。

2、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°C，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°C。酶消化前，取 100μl 胃蛋白酶母液加入到 37±1°C 的酶缓冲液中，充分溶解后备用。

3、洗液 1 和洗液 2（次日准备）

在洗涤开始前，打开恒温水浴锅，调节水温至 73±1°C，取 50 ml 洗液 1 于染缸中，并放入水浴锅，预热至缸内溶液温度为 73±1°C；另取 50 ml 洗液 2 于染缸中，室温放置。

二、 实验步骤

（一） 预处理

- 1、将玻片在室温的预处理液中浸泡 10 分钟；
- 2、将玻片在 37±1°C 胃蛋白酶工作液中消化 10 分钟；
- 3、将玻片在室温的预处理液中浸泡 2 分钟；
- 4、将玻片分别在 70%、85%、100% 乙醇溶液中依次脱水各 1 分钟；
- 5、室温风干玻片；

（二） 共变性及杂交（避光条件下进行）

- 1、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；
- 2、打开杂交仪，设置或选择已保存的程序：73°C 变性 3 分钟，37°C 杂交过夜（14-18 小时）；
- 3、从 -20±5°C 冰箱取出探针，震荡混匀，瞬时离心；
- 4、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；
- 5、将封好的玻片，放到杂交仪上，启动变性杂交程序；

（三）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，去除封片胶与盖玻片；
- 2、将玻片浸入 $73\pm 1^{\circ}\text{C}$ 洗液 1 中，轻轻涮洗 2 分钟；
- 3、将玻片浸入室温洗液 2 中，洗涤 1 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 $10\mu\text{l}$ 染色液至样本中心区域，盖上盖玻片并压紧， $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 保存 20 分钟后在荧光显微镜下观察；

【检验结果观察】

- 1、在荧光显微镜下选用合适的滤光片组观察结果；
- 2、在 $10\times$ 物镜下寻找到区域，在 $100\times$ 油镜下计数；
- 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，对每个核内信号点进行计数，对于无信号，信号弱的细胞核不计数。

【产品性能指标】

- 1、本试剂盒用于细胞样本，如骨髓细胞、外周血细胞、羊水细胞等；
- 2、经本试剂盒处理的细胞样本，细胞通透性好，最大程度增加探针和靶 DNA 接触机会。

【注意事项】

- 1、本试剂仅用于科研，供专业人士使用，不同批号试剂请勿混用，请在有效期范围内使用。
- 2、使用过的试剂和样本，应视为医疗废弃物妥善处理。
- 3、该试剂盒仅用于细胞样本，如骨髓细胞、外周血细胞、羊水细胞等。