

使用说明书

■ 产品列表

产品	货号	规格	运输条件	储藏条件
人类1号染色体CEP探针——绿	FP001	10 hybridizations	低温	-20℃ 下能稳定储藏至少 1 年。
人类1号染色体CEP探针——橙	FP002	10 hybridizations		
人类2号染色体CEP探针——绿	FP006	10 hybridizations		
人类2号染色体CEP探针——橙	FP007	10 hybridizations		
人类3号染色体CEP探针——绿	FP011	10 hybridizations		
人类3号染色体CEP探针——橙	FP012	10 hybridizations		
人类4号染色体CEP探针——绿	FP016	10 hybridizations		
人类4号染色体CEP探针——橙	FP017	10 hybridizations		
人类5号染色体CEP探针——绿	FP021	10 hybridizations		
人类5号染色体CEP探针——橙	FP022	10 hybridizations		
人类6号染色体FISH探针——绿	FP025	10 hybridizations		
人类6号染色体FISH探针——橙	FP026	10 hybridizations		
人类7号染色体CEP探针——绿	FP031	10 hybridizations		
人类7号染色体CEP探针——橙	FP032	10 hybridizations		
人类8号染色体CEP探针——橙	FP037	10 hybridizations		
人类9号染色体CEP探针——绿	FP041	10 hybridizations		
人类9号染色体CEP探针——橙	FP042	10 hybridizations		
人类10号染色体CEP探针——绿	FP046	10 hybridizations		
人类10号染色体CEP探针——橙	FP047	10 hybridizations		
人类11号染色体CEP探针——绿	FP051	10 hybridizations		
人类11号染色体CEP探针——橙	FP052	10 hybridizations		
人类12号染色体CEP探针——绿	FP056	10 hybridizations		
人类12号染色体CEP探针——橙	FP057	10 hybridizations		
人类13号染色体CEP探针——绿	FP061	10 hybridizations		
人类13号染色体CEP探针——橙	FP062	10 hybridizations		
人类14号染色体CEP探针——绿	FP066	10 hybridizations		
人类14号染色体CEP探针——橙	FP067	10 hybridizations		
人类15号染色体CEP探针——绿	FP071	10 hybridizations		
人类15号染色体CEP探针——橙	FP072	10 hybridizations		
人类16号染色体CEP探针——绿	FP076	10 hybridizations		
人类16号染色体CEP探针——橙	FP077	10 hybridizations		
人类17号染色体CEP探针——绿	FP081	10 hybridizations		
人类17号染色体CEP探针——橙	FP082	10 hybridizations		
人类18号染色体CEP探针——绿	FP086	10 hybridizations		
人类18号染色体CEP探针——橙	FP087	10 hybridizations		
人类19号染色体CEP探针——绿	FP091	10 hybridizations		
人类19号染色体CEP探针——橙	FP092	10 hybridizations		
人类20号染色体CEP探针——绿	FP096	10 hybridizations		
人类20号染色体CEP探针——橙	FP097	10 hybridizations		
人类21号染色体CEP探针——绿	FP101	10 hybridizations		
人类21号染色体CEP探针——橙	FP102	10 hybridizations		
人类22号染色体CEP探针——绿	FP106	10 hybridizations		
人类22号染色体CEP探针——橙	FP107	10 hybridizations		
人类X染色体CEP探针——绿	FP111	10 hybridizations		
人类X染色体CEP探针——橙	FP112	10 hybridizations		
绿人类Y染色体CEP探针——绿	FP116	10 hybridizations		
人类Y染色体CEP探针——橙	FP117	10 hybridizations		

■ 产品信息

产品	货号	规格
VividFISH™ FISH CEP 探针	多种	20 µL (5x)
Hybridization Sol.	FP200	100 µL (1x)
AntiFade w/DAPI I	FP201	250µL (1x)

■ 探针描述

VividFISH™ FISH CEP（染色体计数）探针的Hybridization Sol.中含有荧光基团标记的 DNA 以及封闭 DNA。

■ 材料

1. 实验试剂及仪器：

乙醇（100%）、20×SSC、NP-40、橡胶胶水、荧光显微镜用的浸镜油，22×22mm 以及 24×24mm 盖玻片、可调整的移液枪及枪头、计时器、金刚石划线器、医用镊子、玻片染色缸（50mL）、温度计、涡旋混合器、带盖玻片盒、小型离心机、热循环仪、切片加热器、水浴、循环水浴缸(73±1°C)、恒温箱或玻片杂交仪、配有合适滤镜的荧光显微镜。

2. 溶液准备（试剂盒未包含）：

预处理溶液： 50mL 2x SSC、0.5% NP-40，pH7.0，4°C 储存。

变性溶液： 50mL 70% 甲酰胺；新鲜配制的1x SSC，pH7.0。

洗涤缓冲液： 100mL of 0.5x SSC、0.1% NP-40，4°C 储存。

■ 实验步骤

1. 玻片预处理

注：细胞玻片标本的准备步骤请参考[FISH 细胞玻片标本准备](#)。

1. 细胞或染色体玻片标本

- ① 在玻片标本瓶中加入50mL **预处理溶液**，在37°C 水浴中预热。
- ② 将玻片标本放在预热到 37°C 的**预处理溶液**，孵育30 分钟。
- ③ 将玻片标本置于70%、90% 和100%乙醇中各脱水1 分钟，然后风干。
- ④ 将玻片标本放进标本盒，室温保存直到下一步。

2. FFPE 玻片标本：按照预处理试剂盒制造商提供实验步骤进行。

（GeneCopoeia Inc 提供 FFPE 预处理试剂盒（FP204））。

2. 探针准备：

1. 室温融化**FISH探针**和**Hybridization Sol.**，涡旋混匀。短暂离心，再次轻轻震荡混匀。
2. 将2µL **FISH CEP 探针**（5×）用**Hybridization Sol.**稀释成 10µL，放在冰上。

注：试剂盒中的**Hybridization Sol** 是用于稀释 **VividFISH™ CEP 探针**的。使用其他杂交溶液稀释探针可能会降低 FISH 信号的强度。

3. 杂交：

1. 在42°C 恒温箱中预热一个保湿盒。

2. 在玻片标本瓶中加入50mL **变性溶液**，在73±1℃ 循环水浴中预热。
3. 将第1步预处理过的玻片标本放进73±1℃ **变性溶液** 5 分钟。
4. 将玻片标本置于70%、90% 和100%乙醇中各脱水1 分钟，然后风干。
5. 取第2步准备好的FISH 探针溶液（每张玻片标本取10 μL）置于离心管内，80℃变性5 分钟，然后放在冰上。
6. 短暂离心，轻轻震荡混匀。
7. 滴加10 μL FISH 探针溶液至每个玻片的样本上，去掉气泡。
8. 将22 x 22 mm 盖玻片小心地盖在FISH 探针溶液上，等待溶液慢慢在盖玻片下扩散直至充满。
9. 用橡胶水泥封闭盖玻片四周。
10. 将玻片置于42℃ 恒温箱里预热的保湿盒内，孵育16-24 小时。
11. 继续进行**杂交后洗涤**步骤。

4. 杂交后洗涤

1. 循环水浴 73±1℃ 预热一个 50mL 装有0.5x SSC+0.1% NP40 的玻片标本瓶。
2. 用小镊子除去封装的橡胶胶水（避免扰动盖玻片）。
3. 将玻片标本置于装有 2xSSC 的玻片标本瓶中，轻轻摇晃，使盖玻片漂离。
4. 将玻片标本置于73±1℃ 预热的0.5x SSC+0.1% NP40 中孵育5 分钟，孵育过程中不时轻轻搅动玻片。
5. 将玻片标本转移到 常温的2x SSC+0.1% NP40 中，室温孵育1 分钟。
6. 用ddH₂O 漂洗一下，沥去多余的液体并风干。
7. 滴加15μL 的**AntiFade w/ DAPI I** 于样本上，去除气泡。
8. 将24 x 24 mm 盖玻片小心地盖在**AntiFade w/ DAPI I** 上，等待溶液慢慢在盖玻片下扩散直至充满。
9. 将玻片标本避光放置10-15 分钟。
10. 使用荧光显微镜及适合的滤光片观察（参数见附录）。

注：如需长期保存玻片标本，请使用指甲油封闭盖玻片边缘，并-20℃ 避光保存。

■ 附录：荧光显微镜参数

- **显微镜**：带100瓦特水银灯泡的荧光显微镜。
- **物镜**：25X 至100X 物镜，结合10X 目镜使用。如需进行FISH信号计数，可通过60X 或100X油浸物镜获得理想的效果。
- **滤光片**：滤光片都是配合特定荧光染料设计的，因此必须有针对性地进行选择。

荧光染料	激发波长	发射波长	匹配的滤光片
DAPI	345 nm	455 nm	DAPI (蓝)
绿	496 nm	520 nm	FITC (绿)
橙	552 nm	576 nm	5-TAMRA (橙)

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。