# 使用说明书

## ■产品信息

**人类8号染色体CEP探针2.0——绿（FP615）**

| 产品 | 货号 | 规格 | 运输条件 | 储藏条件 |
|---|---|---|---|---|
| **VividFISH™ FISH CEP 探针2.0** | 多种 | 20 µL (5x) | 低温 | -20°C下能稳定储藏至少1 年。 |
| **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45°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°C 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45℃ 恒温箱里预热的保湿盒内，孵育2-16 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°C 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°C 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°C 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 | 490-496 nm | 510-520 nm | FITC (绿) |
| 橙 | 550-560 nm | 570-580 nm | 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。

易锦生物 iGeneBio
地址：广州高新技术产业开发区广州科学城揽月路3号D区 D801
电话：020-28069288 / 020-28069233
邮编：510663
网址：www.igenebio.com