

# 使用说明书

## ■ 产品信息

人类8号染色体CEP探针2.0——橙（FP615）

产品	货号	规格	运输条件	储藏条件
<b>VividFISH™ FISH CEP 探针2.0</b>	多种	20 µL (5x)	低温	-20℃下能 稳定储藏至 少1年。
<b>Hybridization Sol.</b>	FP200	100 µL (1x)		
<b>AntiFade w/DAPI I</b>	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℃)、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℃ 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℃ 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℃ 水浴中预热。
- ② 将玻片标本放在预热到 37℃ 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2 $\mu$ L **FISH CEP 探针**（5 $\times$ ）用**Hybridization Sol.**稀释成 10 $\mu$ L，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 $\pm$ 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 $\pm$ 1 °C**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  $\mu$ L）置于离心管内，80°C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  $\mu$ L 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°C 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 $\pm$ 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 $\pm$ 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ddH<sub>2</sub>O 漂洗一下，沥去多余的液体并风干。
7. 滴加15 $\mu$ L 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。