

鉴别人和鼠细胞的原位杂交检测试剂盒

产品编号： 规格： 10T

应用范围

本试剂盒包含探针能特异检测人和小鼠基因组，适合鉴别人和鼠源性细胞的定位，分布，追踪；可用于人和鼠源细胞的追踪；还可以应用于干细胞分化研究，肿瘤微环境和肿瘤免疫的研究以及神经细胞干细胞的分化等。能完全鉴别人和小鼠细胞。

试剂盒组成

名称	规格	数量
Hsa Specific FISH Probe(CY3 Labeled)	10 ul	1
Mus Specific FISH Probe(FITC Labeled)	10 ul	1
DNA Hybridization Buffer	200 ul	1
DAPI Antifade Solution	1 ml	1

需要自备的试剂

1. 洗液：2×SSC (01%NP-40)： 0.3 M NaCl、0.03M 柠檬酸三钠、0.1%NP-40
2. 100%、85%、75% 的乙醇；
3. 胃蛋白酶消化液 (0.25%)
4. 变性液 (70%去离子甲酰胺、2×SSC) (可选，如用共变性则不需要准备)
4. Rubber cement 胶

步骤

• 细胞系预处理：

按标准中期染色体制备方法制备细胞悬液，滴片，老化，直接进行 FISH 实验。

• 石蜡标本预处理：

1. 老化：准备 4~10 μ m 厚度的石蜡切片，烤片，65 $^{\circ}$ C 过夜或 70 $^{\circ}$ C、2 小时以上。
2. 脱蜡：浸入二甲苯替代物，每缸 5 分钟，共 3 次。
3. 复水：然后一次入 100%、85%、75% 乙醇浸泡 5 分钟，蒸馏水中 2 分钟。
4. 将片子入沸腾的蒸馏水 (95 $^{\circ}$ C \pm 5) 煮片子 15 分钟。
5. 冲洗：用 PBS 浸泡，每缸 5 分钟，共 2 次。
6. 蛋白消化：在消化液滴加在玻片上，37~47 $^{\circ}$ C，5-12 分钟，温度升高，时间缩短，注意避免脱片。观察消化情况，关键步骤。
7. PBS 浸泡 2 次，每次 5 分钟。
8. 75%、85%、100% 酒精脱水各 1 分钟。
9. 空气晾干。

- **FISH**

- 方法一:

- 玻片变性

- 11. 用水浴锅将变性液预热， $77\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，10 分钟。

- (注意：水浴锅升温至 77°C 时开始计时；可用附赠的玻片盒加热)

- 12. 将玻片浸入已预热变性液中， $77\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，4~6 分钟。

- 13. 梯度脱水：马上置入冰冷 70% 酒精 3 分钟，然后 85%、100% 酒精脱水，各 1 分钟。在 $45\sim 50^{\circ}\text{C}$ 预热备用。

- 探针变性，以下步骤，探针注意避光。

- 1. 77°C 变性 5 分钟，冰上放置，然后 37°C 平衡 2 分钟备用，建议用 PCR 仪。

- 2. 将探针加在完全干燥的玻片上。

- 3. 加盖玻片，Rubber cement 胶封片； $37\sim 42^{\circ}\text{C}$ 过夜（16~36 小时）。

- 方法二:

- 玻片探针共变性

- 将探针加到玻片标本位点，盖上 $22\times 22\text{mm}$ 盖玻片，Rubber cement 胶封片，设置仪器 85°C ，变性 5~8 分钟，转到孵育盒 37°C 孵育 16~24 小时。

- **玻片洗涤:**

- 1. 准备 3 缸洗液，轻轻揭去玻片上的胶，将片子放于洗液中使盖玻片脱落。

- 2. 常温下片子入洗涤液中洗涤 3 次，每次 5 分钟。

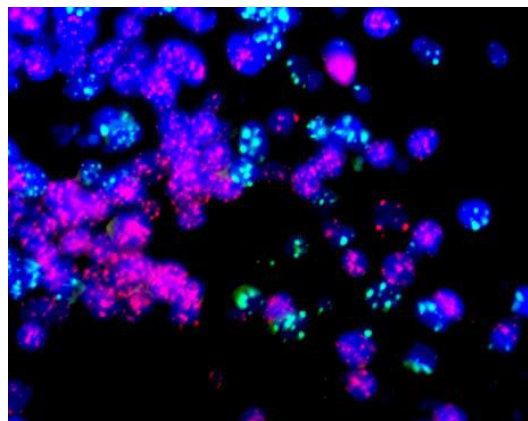
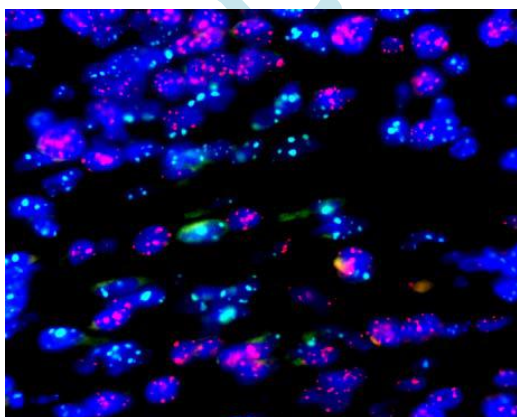
- 3. 梯度脱水，75%、85%、100% 酒精，1 分钟。空气干燥。

- **观察结果:**

- 1. 滴加 $20\mu\text{l}$ DAPI-Antifade Solution，加盖玻片。

- 2. 置于暗处 15 分钟，显微镜观察结果。

- 3. 结果，镜下观察需要考虑滤光片和显微镜调节，请仔细观察。



图片：将肿瘤移植到 C57 小鼠皮下，组织包埋肿瘤组织，切片后被用于原位杂交检测；红色的是人的肿瘤细胞 (Hsa Specific FISH Probe)，绿色的是小鼠来源的细胞 (Mus Specific FISH Probe)。