

荧光原位杂交 FISH 操作规程

一、主要试剂

1) 变性液 20×SSC 4ml, ddH₂O 8ml, 甲酰胺 28ml。

2) PBD 液 1000ml 20×SSC 中加入 1.25g Tween-20。

二、操作流程

1) 硅化玻片, 切片, 烤片 60℃ 过夜;

2) 脱蜡入水, 斜置切片, 空干;

3) 2×SSC 洗涤三次, 每次 5min (下简写为 3×5");

4) 0.2M HCl 处理, 室温 10", 接步骤 3;

5) 0.25mg/ml 蛋白酶 K 处理, 室温 15~30", 接步骤 3;

6) 切片入 -20℃ 梯度酒精脱水各 2", 空干;

7) 切片入 85℃ 变性液 8";

8) 迅速入 -20℃ 梯度酒精脱水各 2", 空干;

9) 杂交液 85℃ 变性 5", 0℃ 冰浴 10"; 滴加至切片, 加盖玻片, 37℃ 过夜;

10) 反应体系中加入等体积的甲酰胺, 45℃ 10";

11) 2×SSC 洗涤, 40℃, 5min; 2×SSC 洗涤, 37℃, 5min;

12) PBD 洗涤切片, 3×2";

13) 滴加异硫氢酸荧光素标记的亲合素 (Avidin-FITC), 塑膜封片, 37℃, 30min;

- 14) 洗涤，同步骤 12;
- 15) 滴加抗亲和素 (Anti-Avidin) , 37°C, 30min;
- 16) 重复步骤 12, 13, 12;
- 17) 滴加 DAPI (二脒基二苯基吲哚/碘化丙啶), 直接封片, 荧光镜检。



上海闪晶分子生物科技有限公司

地址: 上海市闵行区北桥镇吴河路328号A栋2楼

邮编: 201109

联系: 市场部

电话: 54460832 800-988-1995

E-mail: master@shinegene.org.cn

网址: www.shinegene.org.cn