

细菌通用原位杂交检测试剂盒

产品编号：D-0016 规格：50 T

应用范围

探针：直接荧光标记的细菌探针

标本：石蜡组织标本、冰冻组织切片、细胞涂片、土壤涂片、活性污泥涂片等细菌菌群的鉴定。

试剂盒组成

试剂	规格	数量	储存
Solution A	15 ml	1	4℃
Solution B	15 ml	1	4℃
Hybridization Buffer (25%)	10 ml	1	-20℃
Hybridization Buffer (35%)	10 ml	1	-20℃
Hybridization Buffer (45%)	10 ml	1	-20℃
Blocking Buffer	10 ml	1	-20℃
Washing Buffer I (10×)	100 ml	1	4℃
Washing Buffer II (10×)	100 ml	1	4℃
DAPI-Antifade Solution	1ml	1	-20℃, 避光

注意：

1. Washing Buffer (10×)，稀释前必须摇匀，摇匀后呈浑浊白色液态，稀释后变澄清，且有少量泡沫；
2. DAPI-Antifade Solution 必须避光储存。

需要自备的试剂、耗材与仪器

细菌探针；二甲苯或其替代品；100%、85%、70%乙醇；4%多聚甲醛；Rubber Cement；0.1% DEPC 水；PBS pH7.0（DEPC 水配制）；盖玻片；染缸；镊子；0.2ml 离心管；避光湿盒；恒温箱；水浴锅；荧光显微镜

实验步骤

Day 1

1. 预处理

- 石蜡组织切片

65-72℃烤片 0.5 小时-2 小时，二甲苯脱蜡，5min/次，3 次；无水乙醇、85%乙醇、70%乙醇依次 5min；浸入 PBS，5min/次，2 次

- 冰冻组织切片

冷冻冰箱中取出，放置室温 15min；

65-72℃烤片 0.5 小时-2 小时，浸入 PBS，5min/次，2 次

- 微生物固定或者细胞涂片、土壤涂片、涂片

72℃烤片 2 小时，浸入 1×PBS，5min/次，2 次

2. 将 solution A 滴加在标本上，室温静置 20min（微生物固定或者细胞涂片、土壤涂片、涂片跳过此步骤）；

3. 吸去 Solution A，滴加 Solution B，室温静置 15min；

4. 吸去 Solution B，在 PBS 溶液中浸泡 10min；

5. 封闭

在标本上滴加约 200μl Blocking Buffer，置于湿盒中，于恒温箱 55℃封闭 2 小时；

6. 准备探针

封闭快结束时，将探针与 Hybridization Buffer 按 1:50~200 稀释，混合均匀后，88℃变性 3min，37℃平衡 5min；

注：本试剂盒配备了 3 种浓度的细菌杂交液，具体哪种杂交液适合需要客户自行摸索，不同的样本需要的杂交液浓度不同。

7. 杂交

封闭结束后，吸去 Blocking Buffer，滴加 15~30μl 平衡后的探针，盖上盖玻片，用 Rubber Cement 封片，37℃~42℃杂交 16-72 小时；

Day 2

以下步骤注意避光操作

8. 洗涤

Washing Buffer (10×) 与蒸馏水按 1: 9 混合均匀, 配成工作液, 揭去 Rubber Cement, 将玻片放入 Washing Buffer I 工作液, 3-5min 后, 盖玻片会自动脱落, 再将玻片移至新的 Washing Buffer I 工作液 (预热至 60℃), 洗涤 2min, 再移到室温的 Washing Buffer II 工作液, 洗涤 15min

9. 将标本依次浸入 70%、85%、100%乙醇中个脱水 2 min, 室温干燥;

10. 滴加 20μl DAPI Anti-fade solution, 盖上盖玻片后, 暗处静置 15min 后, 荧光显微镜下观察。

注: 镜下观察需要考虑滤光片和显微镜调节, 请仔细观察; 如不能及时观察结果, 请将标本置于标本盒, 用锡纸包好, -20℃冰箱放置, 此方法储存的标本的荧光信号大概能保留 2 个月以上。

注意事项

- 1) 实验过程中部分试剂对人体有害, 请注意穿戴实验服和配戴手套;
- 2) 冬季室温温度较低, 可适当延长反应时间或置恒温箱中反应;
- 3) 滴加于标本上的试剂应覆盖整个标本, 防止因试剂孵育不全而引起结果的偏差 (可在滴加试剂后加盖盖玻片或封口膜)。
- 4) 本产品只供实验研究使用, 不能应用于临床诊断或治疗。

广州市外显子生物技术有限公司

技术支持: focobiolab@126.com Tel: 86-20-89269730

订购产品: focobio@126.com; Tel: 86-20-89895006