

リンパ球、培養細胞前処理

1. エージング



37°C 30分間

エージング溶液

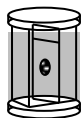
(2XSSC/0.1% NP-40:PH7~8)

20X SSC	5ml
NP-40	50 μl
精製水	45ml

2. アルコール脱水



70%
EtOH
1分間
1回



100%
EtOH
1分間
1回

3. 風乾



FISH染色体操作法

1. 検体DNAの変性



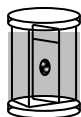
73~75°C 5min

変性溶液

(2XSSC/70%ホルムアミド:PH7~8)

100%ホルムアミド	35ml
20XSSC	5ml
精製水	10ml

2. 洗浄、脱水



70%
EtOH
1分間
1回



100%
EtOH
1分間
1回

3. 風乾



プローブ変性

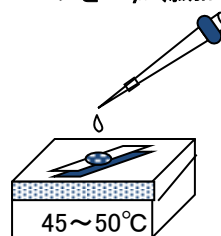


1テストあたり10 μl加える

73~75°C 5min

ハイブリダイゼーション

1. DNAプローブを10 μl添加する



45~50°C

2. カバーガラスをのせ

ペーパーボンドでシールする



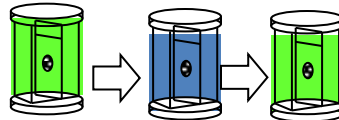
3. インキュベーション



湿潤箱にいれ遮光する
37°C 4~72時間

洗浄

ペーパーボンドを取り除き1個目の
コプリングジャーに入れカバーガラス
を剥がす。



(ポストハイブリダイゼーション
洗浄緩衝液: PH7~8)

2X SSC	0.4X SSC	2X SSC
/0.3% NP-40	/0.3% NP-40	常温 1min
常温 5min	72±1°C 1-2min	

対比染色

1. DAPI 10 μlを スライドターゲットに添加

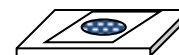


DAPI 10 μl

☆DAPI

リンパ球、培養細胞の場合
150ng/mlのDAPIを使用する。

2. カバーガラスをのせる



☆マニキュアでシールすると検
鏡時カバーガラスのずれを防ぐ
ことができます。
☆封入をやり直したいときはスラ
イドガラスを2×SSCにいれりと
簡単にはずせませす。

観察



対物レンズ40Xで細胞のエリアを
スキャンし核が適当に分布してい
るエリアを選ぶ。その後63Xまた
は100Xの対物レンズを用いて油
浸で検鏡する。