原位杂交样本准备方法及要求

实验目的：组织或细胞原有结构基础之上（组织切片或细胞），检测某种基因的有无，定位及半定量。

以下所有样本必须尽量新鲜，固定液或悬浮液都不得冷冻结冰！

1、组织冰冻切片

组织取出后，切取需要部位，厚度不要太厚，2mm 左右,用 PBS 漂洗干净，干冰运输或立即置于固定液中，组织固定有原位杂交固定液（动物）、原位杂交固定液（植物）、原位杂交固定液（较嫩植物），室温固定 12 小时（根据组织大小）以上，植物组织固定时需常温抽真空 30min，倒掉固定液，用纯水或 PBS 清洗两次后，放入 15%蔗糖溶液中，4℃脱水 8 小后，换 30%蔗糖溶液 4℃过夜。冰切时佩戴手套。冰冻切片放-20℃或-80℃保存备用。

2、组织石蜡切片

组织取出后，切取需要部位，厚度不要太厚，2mm 左右,用 PBS 漂洗干净，后立即固定，动物组织用原位杂交固定液（动物），植物组织用原位杂交固定液（植物）或原位杂交固定液（较嫩植物），植物组织固定时需常温抽真空 30min，固定 12h 以上。固定完成后脱水、包埋、切片。梯度酒精配制需用 DEPC 水。石蜡常规保存备用。

3、标本运输

3-1 冰冻切片

标本放原位杂交固定液中，常温运输；冰冻切片-20℃运输；新鲜组织干冰运输。交接单随样本一起，单独封装。

3-2 石蜡切片

标本放原位杂交固定液中，常温运输；石蜡切片常温运输。交接单随样本一起，单独封装。

3-3 细胞爬片

细胞爬片加原位杂交固定液后密封 4℃运输。交接单随样本一起，单独封装。

4、DEPC 水配制

纯水中加入 0.1%DEPC 原液震荡搅拌 2h 后静置过夜后高压灭菌，有效灭菌时间 30min 以上，或直接购买。