

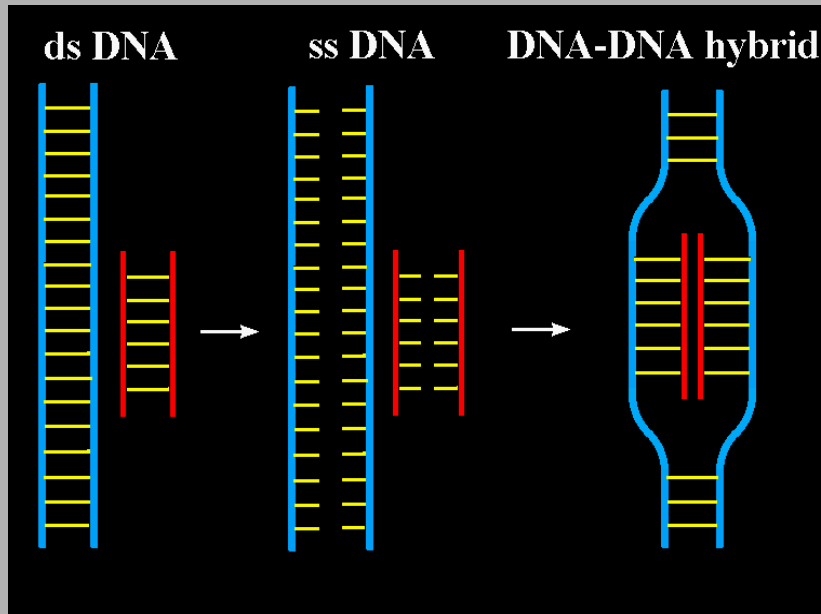
# Fluorescenční *in situ* hybridizace - postup

# Materiál

→ v naší laboratoři se zpracovává:

- kultivovaná kostní dřeň
- kultivovaná periferní krev
- kultivovaná plodová voda
- nekultivované amniocyty
- otisky kostní dřeně a tumoru

# Denaturace a renaturace



zhotovení kvalitního preparátu obsahující cílové místo (metafázní chromozómy, interfázní jádra, tkáňové preparáty, celé buňky)

.příprava a značení sond

.denaturace sondy

.denaturace cílového místa

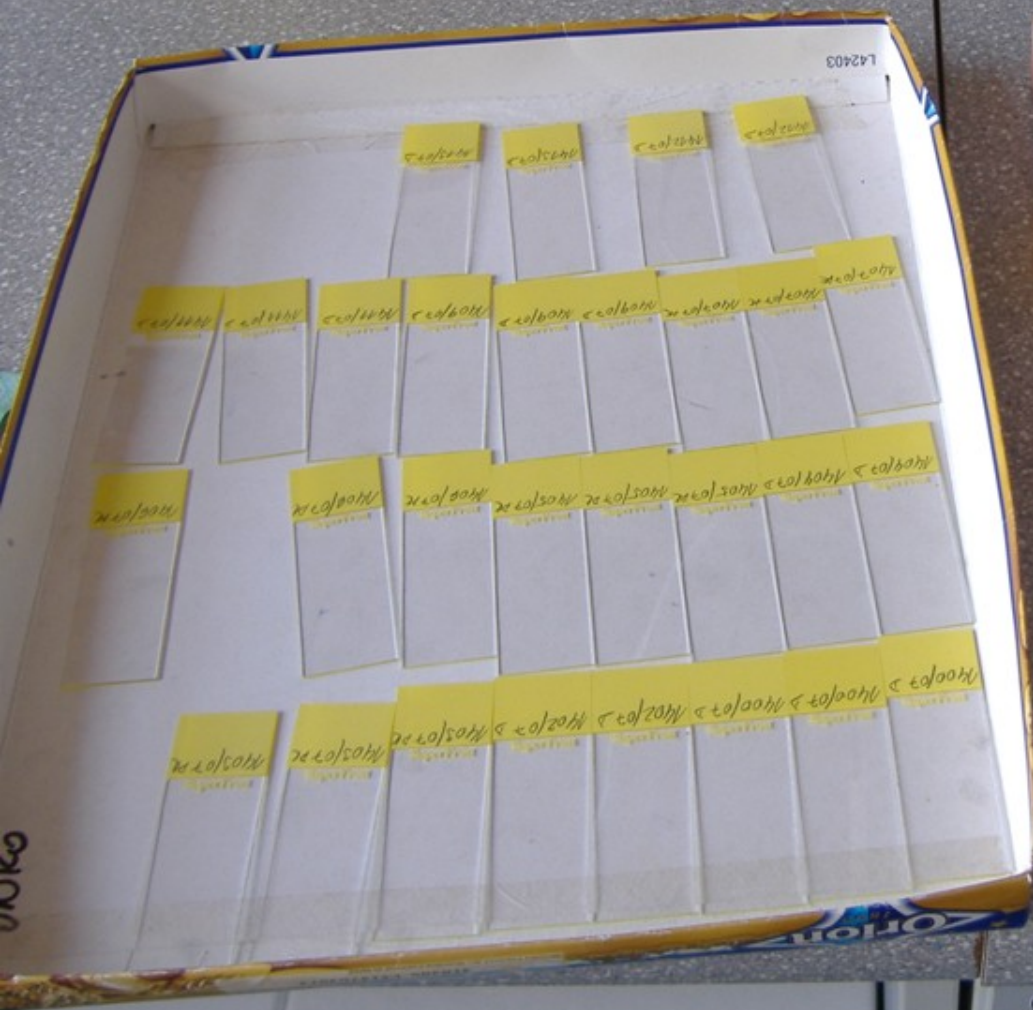
.hybridizační reakce mezi sondou a cílovým místem

.odstranění nenavázané či nespecificky vázané sondy

....barvení pozadí

.....vyhodnocení a zpracování fluorescenčního signálu

nakapaná sklíčka – suspenze jader po kultivaci

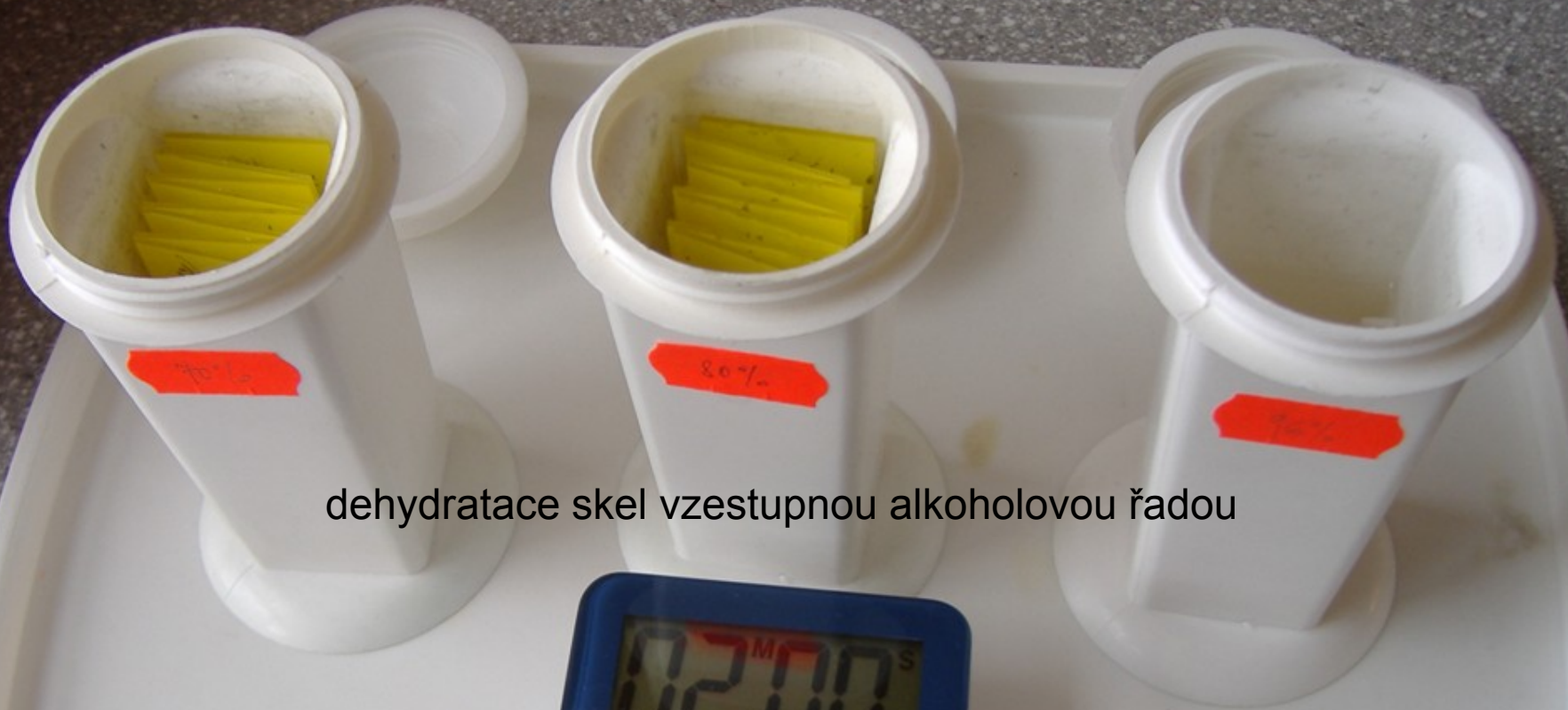


SKIA

zestaršení preparátů  
v roztoku 2xSSC při  
37°C



dehydratace skel vzestupnou alkoholovou řadou



sušení zestaršených skel pod větráčkem



komerčně dodávané sondy





sklo s nakapanou suspenzí

sonda



sklo s nakapanou suspenzí + sonda dohromady





orámování preparátu chemoprénem

Mini-16<sup>2</sup>

1327/07 X

SuperFrost



denaturace DNA a sondy  
teplota závisí na typu sondy (75 C)  
(přítomný formamid snižuje teplotu denaturace)

-105

amps / volts

MOS.cz  
chemos.cz

30 20 10 0 80 90 100

STORVYONIC °C  
76.6  
SET

50 40 30

01:00<sup>S</sup>

COUNT DOWN / UP TIMER

MIN

SEC

START/STOP

CLEAR

MEMORY

vložení skel do vlhké komůrky

- v termostatu pak probíhá sekvenčně specifická hybridizace



*nive*  
incubator



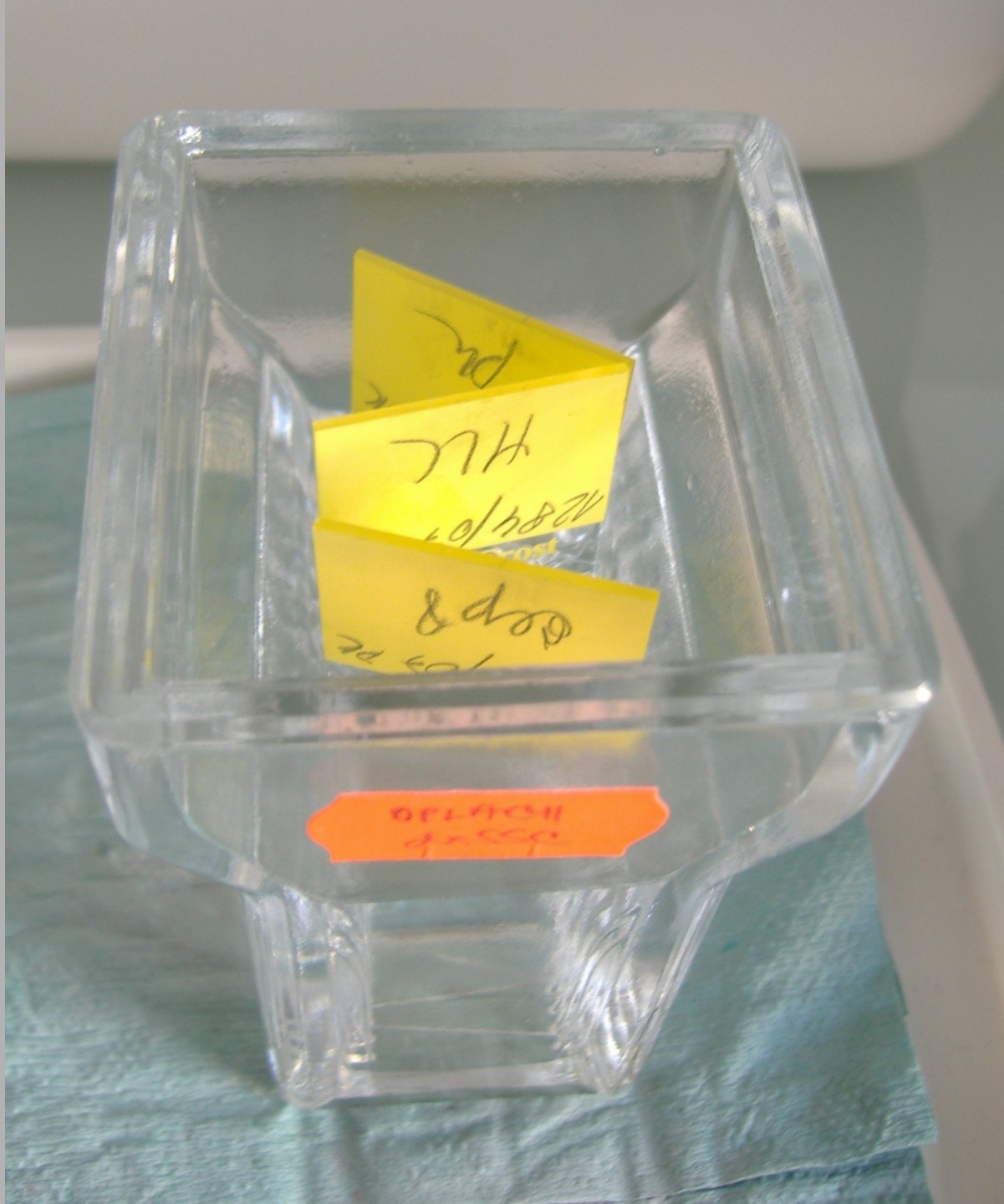
inkubace skel přes noc (1-2 dny) při 37°C

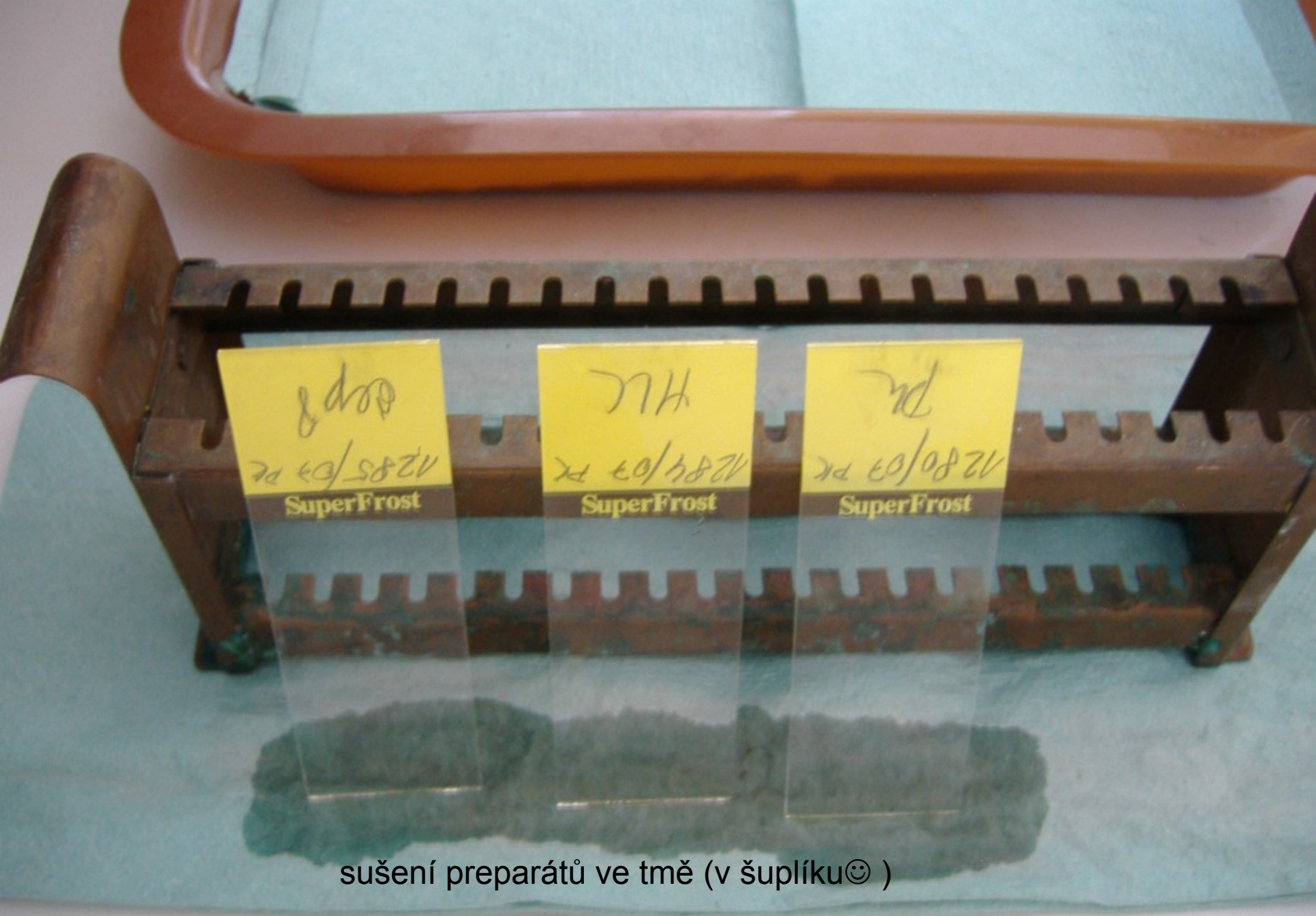
odmytí preparátů v 0,5xSSC - 4 min při 73°C



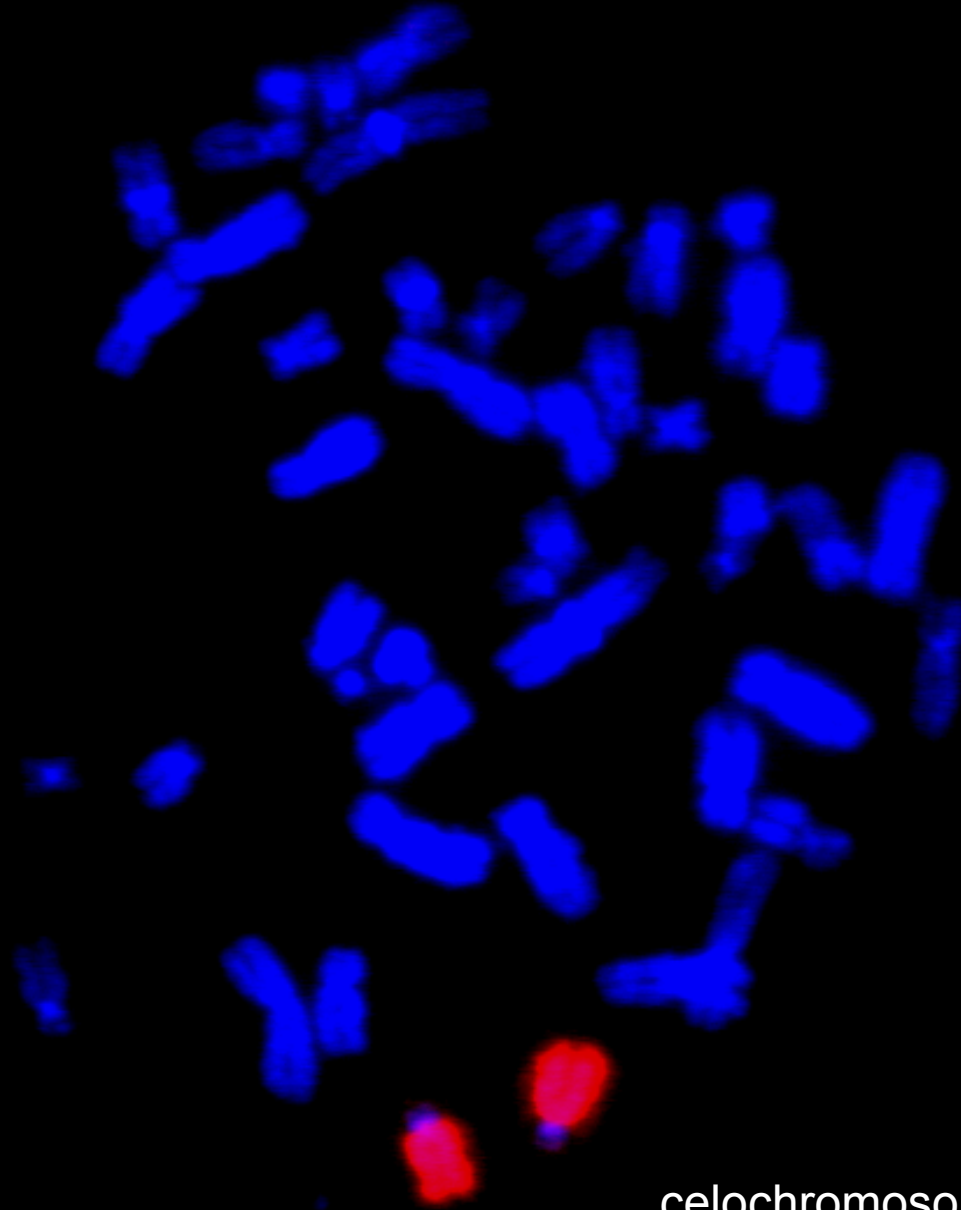


oplach preparátů v 2xSSC

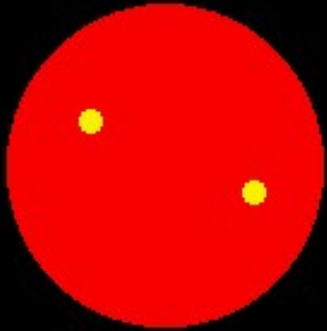




sušení preparátů ve tmě (v šuplíku☺ )



celochromosomové sondy



Lokus specifické sondy

