

常用組織免疫染色及原位雜合染色用緩衝液配方

Recipes for Frequently Used Buffers in Immunohistochemistry Staining and In Situ Hybridization

- **1X PBS (5 公升)**

於空的 5 L 塑膠量杯內加入 500 mL **10X PBS stock**，再以 **二次蒸餾水** 加滿至 5 L。

- **PBS (50 mL)**

自櫃內 5L 瓶內之 1X PBS 分裝即可。

- **PBTw 0.1% (50 mL)**

於空的 50 mL 管內加入 0.5 mL 的 **10% Tween 20**，再以 **PBS (1X)** 加滿至 50 mL。

- **PBTw 1% (50 mL)**

於空的 50 mL 管內加入 0.5 mL 的 **100% Tween 20**，再以 **PBS (1X)** 加滿至 50 mL。

- **PBTr 1% (50 mL)**

於空的 50 mL 管內加入 0.5 mL 的 **100% Triton X-100**，再以 **PBS (1X)** 加滿至 50 mL。

- **20X SSC (50 mL)**

自櫃內廠商包裝之 20X SSC 分裝即可。

- **2X SSC (50 mL)**

於空的 50 mL 管內加入 5 mL **20X SSC** 及 **0.5 mL 5% CHAPS**，再以 **二次蒸餾水** 加滿至 50 mL。

- **0.2X SSC (50 mL)**

於空的 50 mL 管內加入 0.5 mL **20X SSC** 及 **0.5 mL 5% CHAPS**，再以 **二次蒸餾水** 加滿至 50 mL。

- **0.1X SSC (50 mL)**

於空的 50 mL 管內加入 0.25 mL **20X SSC** 及 **0.5 mL 5% CHAPS**，再以 **二次蒸餾水** 加滿至 50 mL。

- **PreHyb/PreHyb-DS**

自冷凍庫最下層取出分裝過之 25 mL **formamide** (裝盛於 50 mL 管)，取用 **formamide** 務必通報老師以執行法定之使用登錄。待 **formamide** 融化。自冷凍庫最下層內的玻璃乾燥盒內取出 **ribonucleic acid (torula RNA)**，於室溫至放至少半小時，待完全回溫，以微量天平秤量約 0.025 克之 RNA 粉末，將之直接倒入已融化之液態 **formamide** 中。請將裝 RNA 的藥瓶關緊，放回玻璃乾燥盒內冷凍。加入 RNA 粉末後，**formamide** 應呈混濁狀，可稍微搖盪混合。如要配製 **PreHyb-DS** 可於此時加入 2.5 克 **dextran sulfate**。以定量吸管加入 12.5 mL **20X SSC**，液體應馬上變澄清透明。之後依序加入 0.5 mL **100 X Denhardt's Solution**、0.25 mL **10 mg/mL heparin**、0.5 mL **10% Tween 20**、0.46 mL **1M citric acid**。最後以 **二次蒸餾水** 加滿至 50 mL。保存於 -20°C 冷凍櫃內。

- **Anti-dig blocking solution**

自冷凍庫最下層取出分裝過之 5 mL **10X Western Blocking Reagent** (裝盛於 50 mL 管)。加入 0.5 mL **Normal Sheep Serum (NSS)** (綿羊血清，存於冰箱冷凍庫) 及 0.5 mL **10% Tween 20**，再以 **PBS (1X)** 加滿至 50 mL。此配方用於一般單一 probe，AP anti-dig 之化學呈色反應，可進一步降低背景訊號。其他類型(兩個以上 probes、dig 以外的標記、螢光呈色等)的反應建議使用以下無血清配方。

- **Anti-dig/fluorescein/biotin/DNP blocking solution**

自冷凍庫最下層取出分裝過之 5 mL **10X Western Blocking Reagent** (裝盛於 50 mL 管)。加入 0.5 mL **10% Tween 20**，再以 **PBS (1X)** 加滿至 50 mL。