



mmi protocol-染色体切割

mmi CellCut Plus 系统可以使客户准确的定位和切割比细胞还要小的结构，例如染色体。此 protocol 介绍如何准备染色体玻片用于激光切割。

材料:

细胞培养基	Giemsa染料	移液器	mmi膜片(PN: 50102, 50103)	离心机
离心管	柠檬酸钠溶液	细胞培养基	秋水仙碱或秋水酰胺	蒸馏水
盖玻片	载玻片	二甲苯	mmi分离管(PN:50202-50212)	培养箱

方法

获得处于细胞中期的细胞:

- 1、加入0.5mM秋水酰胺 (Sigma D1925) 或者秋水仙碱 (Sigma C3915) 使细胞快速分裂。
- 2、收集细胞到15ml管内 (秋水酰胺处理2-8h后; 秋水仙碱处理72h后);
- 3、500g离心15min;
- 4、用10ml低渗盐溶液 (eg: 1份培养基+4份dd水) 重悬细胞;
- 5、将细胞放置到37°C培养箱内孵育15-20min, 使其膨胀;
- 6、500g离心15min, 细胞沉淀用5ml固定液 (eg: 冰的甲醇: 乙酸=3:1) 重悬, 固定5min;

染色:

Giemsa是最常用的染色体染料, 其他如用于reverse-FISH的染料也可使用;

- 1、使用过滤后的蒸馏水稀释Giemsa染料, (Giemsa: H₂O=1:10) ;
- 2、室温下孵育样品30min;

注意:

为了而增加膜片的黏性, 可用0.1% Poly-L-Lysine溶液37°C下孵育膜片1h (也可使用明胶或者琼脂糖)

膜片准备

- 1、将膜片放置在乙醇中孵育1.5-24h, 使用前使用蒸馏水冲洗;
- 2、将膜片倾斜45°, 从距离膜片10cm高度滴1-3滴染色后的细胞;
- 3、自然晾干;
- 4、膜片制备完成。



样品从至少10cm高度滴到膜片上



染色体平铺在膜片平整的一侧 (即膜贴在金属框的一侧) 。