

杂交
检测
系列

CAT#:130904-10
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

超级杂交液 (Oligo 探针)

SuperHyb Solution for Oligo

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

| <p>产品及特点</p> | <p>核酸杂交一般是指用一种标记的核酸探针与印迹膜上的核酸进行杂交，由此检测印迹膜上是否存在与探针同源的核酸分子（靶分子）。核酸杂交是分子生物学的基本技术之一，应用非常广泛。本产品为即用型 Oligo 探针专用核酸杂交液，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 既可以用于 DNA Oligo 探针，也可以用于 RNA Oligo 探针。 2. 即开即用，使用方便。 | | | | | | | | | | | |
|---------------------|--|----------|----|----------|-----|--------|-------|------|-----|--|--|--|
| <p>规格及成分</p> | <table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>10 mL 包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>本产品</td> <td>130904</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td colspan="2">1 份</td> </tr> </tbody> </table> | 成分 | 编号 | 10 mL 包装 | 本产品 | 130904 | 10 mL | 使用手册 | 1 份 | | | |
| 成分 | 编号 | 10 mL 包装 | | | | | | | | | | |
| 本产品 | 130904 | 10 mL | | | | | | | | | | |
| 使用手册 | 1 份 | | | | | | | | | | | |
| <p>运输及保存</p> | <p>低温运输，-20℃保存，有效期一年。</p> | | | | | | | | | | | |
| <p>自备试剂</p> | <p>印迹膜、Oligo 探针、6×SSC、2×SSC、0.1×SSC</p> | | | | | | | | | | | |
| <p>使用方法</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. 对 Oligo 探针的杂交，$T_m = GC \text{ 数量} \times 4^\circ\text{C} + AT \text{ 数量} \times 2^\circ\text{C}$。 2. 对 Oligo 探针的杂交，最佳杂交温度一般比 T_m 低 5℃。由于 Oligo 较短，更容易受各种因素影响（如错配率、修饰碱基比例等），所以最佳温度需要适度摸索和优化。 3. 确定洗膜温度: Oligo 探针可以室温洗膜。 4. 预杂交步骤 <p>预杂交就是用不含 Oligo 探针的本产品跟印迹膜进行孵育，其目的是用所含的非特异性 DNA 分子（鲑精 DNA 或小牛胸腺 DNA）及其它高分子化合物将印迹膜上会非特异地吸附 Oligo 探针分子的位点封闭，否则这些位点会吸附 Oligo 探针，造成高背景。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 将结合了靶分子的硝酸纤维素印迹膜或尼龙印迹膜浸泡于自备的 6×SSC 溶液中，使其充分湿润。 2) 将湿润的印迹膜置于一塑料杂交袋中（塑料袋最好预先封口，再剪掉一角，留一个小口），按每平方厘米印迹膜加 0.2 mL 本产品的比例沿小口加入本产品，然后用塑料封口机将口封牢。 3) 将此塑料袋浸入温度设定在最佳杂交温度的恒温水浴中或杂交炉中，保温 1-2 小时，延长到 12-16 小时亦可。注意保温过程中塑料袋应在不停的摇动状态中，使本产品与印迹膜充分接触。 5. 杂交步骤 <ol style="list-style-type: none"> 1) 将 Oligo 探针加入到完成了预杂交的杂交袋中（先用剪刀剪一小口，加入 Oligo 探针后用热封机封口）。Oligo 探针的加入量视探针标记效率而 | | | | | | | | | | | |

| | |
|--------------------|---|
| | <p>定，一般要求终浓度不能低于 1-2 ng/mL。如果检测基因组中的单拷贝基因，Oligo 探针的加入量应加大，而对于检测克隆的基因片段，则 Oligo 探针的量可减少。如果是放射性 Oligo 探针，应将此塑料袋套在另一塑料袋之中，以避免杂交袋发生遗漏、污染工作环境。</p> <p>2) 在选定的杂交温度下继续保温，时间一般为 6-12 小时。</p> <p>6. 洗膜步骤。注意在下面的所有操作过程中，一定不要使印迹膜干燥。</p> <p>此步是将与印迹膜非特异结合的探针分子洗去而只留下特异结合的 Oligo 探针分子。由于非特异性杂交的杂交分子解链温度较低，热稳定性较差，在一定的温度和较低的离子强度下，即可洗掉。</p> <p>1) 杂交完毕，取出塑料袋，剪去一角，倒出所有的含 Oligo 探针的杂交液。此含 Oligo 探针的杂交液可以多次使用再倒弃。</p> <p>2) 剪开杂交袋，用镊子取出印迹膜，浸没于大量的 2×SSC (含 0.5 % SDS) 溶液中，室温下振荡漂洗 15 分钟。</p> <p>3) 重复上步操作一次。</p> <p>4) 将印迹膜转移至 0.1×SSC (含 0.1% SDS) 溶液中，在计算好的洗膜温度下振荡漂洗 30 分钟至 1 小时。</p> <p>5) 重复上步操作一次。</p> <p>6) 将印迹膜转移到滤纸上，吸去表面液体后印迹膜即可用于后续检测。</p> |
| <p>疑难解答</p> | <p>问题一：高背景(有或没有杂交信号)</p> <p>解决方案：将放射性 Oligo 探针的比活降低到 2×10^6 cpm/mL 以下；将非放射性 Oligo 探针的终浓度降低到 30 ng/mL 以下；减少杂交时间；适当提高杂交温度。</p> <p>问题二：没有杂交信号或杂交信号非常弱</p> <p>解决方案：杂交过程中应该连续振荡，不应该有气泡，避免印迹膜变干。将放射性 Oligo 探针活性提高到 $>5 \times 10^8$ cpm/ng，提高非放射性标记 Oligo 探针的终浓度；适当降低杂交温度。</p> |