

杂交
检测
系列

CAT#:130905-10
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

超级杂交液 (芯片)

SuperHyb Solution for Chip

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

产品及特点	<p>基因芯片是将大量靶基因（DNA 片段）有序地、高密度地点在玻璃片或硅片或塑料片上等载体上所形成的矩阵。基因芯片杂交一般情况下是将待测的两种样品（主要是 RNA 样品）分别用 Cy3 和 Cy5 两种荧光染料标记，制备成探针与芯片杂交，杂交信号用激光扫描仪检测，计算机分析检测结果，可获得类似与传统的点杂交的杂交数据，以达到快速、高效、高通量及平行性的分析表达谱的目的。本产品为即用型芯片专用的杂交液，可用于各种标记的探针（主要是 Cy3 和 Cy5 标记的 RNA 探针）跟基因芯片的杂交实验。</p>			
规格及成分		成分	编号	热封袋包装
		本产品	130905	10 mL
		使用手册	1 份	
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。			
自备试剂	印迹膜、去离子水、20×SSC			
使用方法	<p>一、预杂交（下面的操作以载玻片为例）</p> <p>预杂交的主要作用是在加入标记探针之前从载玻片上洗去未结合的靶基因（靶 DNA），同时封闭载玻片表面可能与标记探针进行非特异性结合的反应性基团（如自由氨基），从而降低非特异的背景。所有的预杂交、杂交、杂交后洗涤都在 Coplin 染缸或者显微镜载玻片盘等杂交盒中进行。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 在室温下，将载玻片浸入装有本产品的杂交盒中（本产品的用量根据杂交盒的大小决定，以能够浸埋载玻片为准）。将杂交盒在 42℃水浴中放置 30~45 分钟，无需震动。 2. 在室温下用去离子水清洗载玻片数次。 3. （可选）用 100%异丙醇（HPLC 级）漂洗载玻片。 4. 在加入杂交溶液之前，空气晾干或者通过离心（室温下以 2000g 离心 5 分钟，有阵列的一面朝外）干燥载玻片，将干燥后的载玻片立即用于杂交。如果载玻片干燥时间超过 1 小时，杂交效率可能会迅速下降。 <p>二、杂交</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 将等同于至少 1 ug polyA RNA 或 100 ug 总 RNA 的 Cy3 和 Cy5 标记的探针 RNA 混合在一起，最终体积约为 6 μL。如果没有这么多的，则需要进行 RNA 扩增。 2. 将 6 μL 标记 DNA 和 30uL 本产品 在塑料离心管中混合，得到杂交液。 3. （可选）将杂交液在微量离心机中 10,000 g 离心 5 分钟，然后将上清液转移到新的塑料离心管中。本步骤以去除靶序列纯化过程中带入的微量 			

	<p>玻璃纤维和其他高分子质量的颗粒。</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. 将上清液在 100℃下加热 2 分钟，然后在 30℃水浴中冷却 30 秒。加热混合液可以降低背景。不要将溶液放置在冰上，因为可能会有沉淀析出。 5. 将适量的杂交溶液加到 DNA 微阵列上，再小心的盖上盖玻片，盖玻片和 DNA 微阵列之间不能有气泡。 6. 将载玻片置于一个空的移液器吸头盒的上层，下层装 5 mL 自备的 3×SSC，盖上盖子即得潮湿的环境。由于杂交是在很小的体积下进行的，在密闭的潮湿保持适当的杂交适度非常重要，过分干燥则盖玻片会粘附在 DNA 微阵列上，背景会很高；过于潮湿则冷凝的液体会进入盖玻片区域，降低杂交信号。 7. 在 42℃下将载玻片温育 14~16 小时。 <p>三、杂交后的清洗。注意在下面的所有操作过程中，一定不要让载玻片干燥。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 杂交完毕，拆卸杂交盒。如果杂交盒是浸入水浴中的，在松开螺丝之前，仔细擦干水痕，尤其是两个半片盒子之间的水痕。 2. 从杂交盒中取出载玻片，浸没于大量的 0.5×SSC (含 0.01 % SDS) 溶液中，直到盖玻片分离。 3. 盖玻片除去后，将载玻片放到玻片夹持器上，然后浸入装有约 250 mL 0.5×SSC (含 0.01 % SDS) 溶液的避光容器中。将容器放在轨道振荡器上，并将载玻片振荡 2 分钟。 4. 将载玻片和夹持器一起浸入到另一个装有约 250 mL 0.5×SSC 溶液的容器中，再次将载玻片振荡 3 分钟。 5. 将载玻片和夹持器一起浸入到另一个装有约 250 mL 0.1×SSC 溶液的容器中，再次将载玻片振荡 3 分钟。 6. 重复上一步 2 次，每次清洗 1 分钟。 7. 快速(<10 秒)将载玻片和夹持器一起浸入到另一个装有约 250 mL 0.01×SSC 溶液的容器中，立即将载玻片放到铺有 3M Whatman 滤纸的离心机微量滴定板夹持器中。低速离心约 5 分钟迅速干燥玻片。 8. 将载玻片放置在避光的盒子内直到准备扫描。(尽量在当日内进行扫描，因为随着时间的延长信号会降低)
<p>疑难解答</p>	<p>问题一：高背景（荧光或黑洞）</p> <p>解决方案：对标记探针进行足够的纯化；清洗过程中操作要迅速，避免载玻片干燥；杂交溶液需要与载玻片基底相匹配。</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，避免玻片变干；检查RNA的纯化和标记；更换杂交试剂。</p>
关联产品	<p>20XSSC (CAT#:100405)、超级杂交液（原位杂交）(CAT#:130904)、超级杂交液（Oligo 探针）(CAT#:130906)</p>