

天
净
沙
系
列

CAT#:220571-10
低温运输, -20℃保存

BINGENE

高效核酸杂交液（芯片杂交专用）

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	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。基因芯片杂交一般指将待测的两种样品分别用 Cy3 和 Cy5 两种荧光染料标记，制备成两种探针与芯片杂交，杂交信号用激光扫描仪检测，计算机分析两种荧光信号，获得杂交数据，达到快速、高效、高通量及平行地分析基因表达谱的目的。本产品为芯片专用的高效核酸杂交液，即开即用，非常方便。			
规格及成分	本产品采用塑料袋包装			
	成分	编号	规格	包装材料
	高效核酸杂交液 (芯片杂交专用)	220571	10 mL	10 mL 本色瓶
	使用手册	220571sc	1 份	无
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	一、预杂交（下面的操作以载玻片为例） 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。 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 5 次。 3. 用 100%异丙醇（HPLC 级）漂洗载玻片。 4. 空气晾干载玻片或者通过室温 2000g 离心 5 分钟（有阵列的一面朝外）甩干载玻片，然后将载玻片立即用于杂交。载玻片的干燥时间不要超过 1 小时，杂交效率可能会迅速下降。 二、杂交 5. 将至少 1 ug 分别用 Cy3 和 Cy5 标记的两种 polyA RNA 或 100 ug 分别用 Cy3 和 Cy5 标记的两种总 RNA 探针混合在一起，最终体积约为 6 μL。如果总量不足，则需要先进行 RNA 扩增。 6. 将上步所得的 6 μL 标记探针和 30uL 本产品在塑料离心管中混合，得到			

	36μL 含探针的杂交液。 7. 将含探针的杂交液放 100℃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。 8. 将适量的含探针的杂交液加到载玻片的 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。 9. 将载玻片置于一个空的吸头盒的上层,下层装 5 mL 自备的 3×SSC,盖上盖子得到潮湿的微环境。由于杂交是在很小的体积下进行的,密闭潮湿对杂交非常重要,否则过分干燥会使盖玻片粘附在 DNA 微阵列上,升高杂交背景;过于潮湿则冷凝的液体会进入盖玻片区域,降低杂交信号。 10. 将由载玻片的吸头盒放 42℃温育杂交 14~16 小时。 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。 11. 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。 12. 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。 13. 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。将容器放在振荡器上振荡 2 分钟。 14. 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。 15. 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。 16. 重复上一步 2 次,每次清洗 1 分钟。 17. 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。 18. 将载玻片放置在避光的盒子内进行扫描。尽量在当日内进行扫描,因为随着时间的延长信号会降低。
关联产品	高效核酸杂交液 (原位杂交)、高效核酸杂交液 (Oligo 探针)