

生物素标记核酸检测试剂盒（化学发光法）

Product Number	Product Name	Packing
BIOK2012	生物素标记核酸检测试剂盒（化学发光法）	1000cm ²

PRODUCT INTRODUCTION

- 生物素标记核酸检测试剂盒（化学发光法）是一种通过 Streptavidin-HRP 及后续的 BeyoECL Moon 试剂来实现化学发光检测 Biotin 标记核酸的检测试剂盒。适用于 Southern blot、Northern blot、ribonuclease protection assay (RPA)或 EMSA 等实验中，采用生物素标记的 DNA 或 RNA 探针时的检测。本试剂盒不适用于生物素标记蛋白的检测。
- 本试剂盒同时还提供了封闭液、洗涤液等检测时所需的配套试剂。
- 本试剂盒采用了高质量的 Streptavidin-HRP Conjugate，HRP 和 Streptavidin 共价交联的比例大于 3，这样比采用 Streptavidin 和 Biotin-HRP conjugate 两种试剂进行检测更方便，并且灵敏度更高。
- 采用了非特异性结合比 avidin 更低的 streptavidin，使检测结果背景更低灵敏度更高。
- 本试剂盒没有提供生物素探针标记相关的试剂。
- 本试剂盒可以用于检测至少 10 块 10×10cm 有生物素标记 EMSA 探针的膜，即共 1000cm²。

PACKING LIST

Product Name	Packing
BeyoECL Moon A 液	55ml
BeyoECL Moon B 液	55ml
Streptavidin-HRP Conjugate	100μl
封闭液	380ml
洗涤液(5X)	250ml
检测平衡液	250ml
说明书	1 份

SAVE CONDITION

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 010-5365 2239 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

Streptavidin-HRP Conjugate 在-20℃保存,其余可 4℃保存。如果长期不用,整个试剂盒可-20℃保存, -20℃可以保存更长时间。

MATTERS NEEDING ATTENTION

- 需自备带正电荷尼龙膜, 以及凝胶电泳时所需的相关试剂。
- BeyoECL Moon A 液和 B 液均对人体有害, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

INSTRUCTIONS

1. 在使用 Biotin 标记探针的情况下, 完成 Southern、Northern 杂交及后续洗涤后, 或 RPA 的转膜和交联后, 或 EMSA 的转膜和交联后, 可以使用本试剂盒开始检测。下面的检测过程中溶液的用量是用于一片 10×10cm 膜的量。如果膜较大或较小, 各溶液的用量可以按比例放大或缩小。
2. 37-50℃水浴溶解封闭液和洗涤液。
注意: 封闭液和洗涤液必须完全溶解后方可使用, 封闭液和洗涤液可以在室温至 50℃之间使用, 但必须确保这两种溶液中均无沉淀产生, 在冬天需特别注意。
3. 取一合适的容器加入 15ml 封闭液, 再放入交联过的含有样品的尼龙膜。在侧摆摇床或水平摇床上缓慢摇动 15 分钟。
4. 取 7.5μl Streptavidin-HRP Conjugate 加入到 15ml 封闭液中(1:2000 稀释), 混匀备用。
5. 去除封闭液, 加入上一步中配制的 15ml 含有 Streptavidin-HRP Conjugate 的封闭液。在侧摆摇床或水平摇床上缓慢摇动 15 分钟。
6. 取 25ml 洗涤液(5X), 加入 100ml 重蒸水或 Milli-Q 级纯水, 混匀配制成 125ml 洗涤液。
7. 将尼龙膜转移至另一装有 15-20ml 洗涤液的容器内, 漂洗 1 分钟。
8. 去除洗涤液, 加入 15-20ml 洗涤液, 在侧摆摇床或水平摇床上缓慢上洗涤 5 分钟。
9. 重复步骤 8 三次(共洗涤四次), 每次洗涤时间均约为 5 分钟。
10. 将尼龙膜转移至另一装有 20-25ml 检测平衡液的容器内, 在侧摆摇床或水平摇床上缓慢

摇动 5 分钟。

11. 取 5ml BeyoECL Moon A 液和 5ml BeyoECL Moon B 液混匀，配制成 BeyoECL Moon 工作液。注意：BeyoECL Moon 工作液必须现配现用。说明：从本步骤起操作方法和注意事项同 Western 实验的荧光检测。
12. 取出尼龙膜，用吸水纸吸去过多液体。立即将膜的样品面向上，放置到处于水平桌面上的洁净容器内或保鲜膜上。
13. 在尼龙膜的表面小心加上步骤 11 配制好的共 10ml BeyoECL Moon 工作液，使工作液完全覆盖尼龙膜。室温放置 2-3 分钟。
14. 取出尼龙膜，用吸水纸吸去过多液体。将尼龙膜放在两片保鲜膜或其它适当的透光薄膜中间，并固定于压片暗盒(也称片夹)内。
15. 用 X 光片压片 1-5 分钟。可以先压片 1 分钟，立即显影定影，然后根据结果再调整压片时间；也可以直接分别压片 30 秒、1、3、5 分钟或更长时间，然后一起显影定影观察结果。

COMMON PROBLEM

1. 背景较高。

可能是由于封闭液或洗涤液中出现沉淀或混浊。解决方法是参考使用说明，加热封闭液和洗涤液使封闭液和洗涤液完全溶解。

2. 出现斑点状背景。

可能是由于过长时间存放导致 Streptavidin-HRP Conjugate 中出现沉淀，解决方法是 12000-14000g 离心 1 分钟再吸取近液面的 Streptavidin-HRP Conjugate。转膜时有气泡也会导致斑点状背景产生，解决方法是转膜时胶、膜、滤纸之间确保没有气泡。

3. 没有条带或信号很弱。

- a. 探针标记效率太低，解决方法是检测探针标记效率，确保探针的标记效率较高。
- b. 探针用量不足或样品量不足，解决方法是加大探针用量或加大样品用量。
- c. 样品中待检测的核酸降解，解决方法是检测待检测的核酸样品是否出现降解，如降解则须制备新的样品。
- d. 转膜效果不佳，解决方法是检查转膜的方法和步骤，最好使用预染的标准品作为转膜的对照。

- e. 选择了不适当的膜，尽管不少情况下硝酸纤维素膜也可以完成检测，请优先选择带正电荷的尼龙膜。
- f. 检测过程中膜干掉了，解决方法是确保检测过程中膜可以被液体覆盖或始终保持湿润。
- g. 没有交联或交联效果不佳，解决方法是进行适当的交联，如果交联效果不佳则须检测交联的效率。
- h. 洗涤液(5X)没有稀释就直接使用，请把洗涤液(5X)稀释至 1X 后再使用。
- i. X 光片曝光时间不足，解决方法是适当延长曝光时间。

Contact Us

QQ:499854788

3494243873

WeChat: 13681256816

15511114213

Email: info@biotyscience.com

Tel: 010-5365 2239

13681256816