



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

化学发光法生物素标记核酸检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D3308	化学发光法生物素标记核酸检测试剂盒	1000cm ²

产品简介:

- 化学发光法生物素检测试剂盒(Chemiluminescent Biotin-labeled Nucleic Acid Detection Kit)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, 生物素标记的DNA探针或EMSA探针的制备可以相应地使用碧云天生产的生物素3'末端DNA标记试剂盒(D3106)或EMSA探针生物素标记试剂盒(GS008)。
- 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。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D3308-1	BeyoECL Moon A液	55ml
D3308-2	BeyoECL Moon B液	55ml
D3308-3	Streptavidin-HRP Conjugate	100μl
D3308-4	封闭液	380ml
D3308-5	洗涤液(5X)	250ml
D3308-6	检测平衡液	250ml
—	说明书	1份

保存条件:

D3308-3 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。

注意事项:

- 需自备带正电荷尼龙膜, 以及凝胶电泳时所需的相关试剂。带正电荷尼龙膜(FFN10/FFN11/FFN13/FFN15)可以向碧云天订购。
- 如果需要使用更多的封闭液或洗涤液, 可另外单独订购 D3308B 封闭液或 D3308W 洗涤液(5X)。
- 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。

使用说明:

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。

常见问题：

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。

使用本产品的文献：

1. Mao XM, Zhou Z, Cheng LY, Hou XP, Guan WJ, Li YQ. Involvement of SigT and RstA in the differentiation of *Streptomyces coelicolor*. FEBS Lett. 2009 Oct 6;583(19):3145-50.
2. Du YL, Shen XL, Yu P, Bai LQ, Li YQ. Gamma-butyrolactone regulatory system of *Streptomyces chattanoogensis* links nutrient utilization, metabolism, and development. Appl Environ Microbiol. 2011 Dec;77(23):8415-26.
3. Zhang P, Li ST, Liu TT, Fu CH, Zhou PP, Zhao CF, Yu LJ. Overexpression of a 10-deacetyl baccatin III-10 β -O-acetyltransferase gene leads to increased taxol yield in cells of *Taxus chinensis*. PLANT CELL, TISSUE AND ORGAN CULTURE. 2011 Jul;106(1):63-70.
4. Li ST, Fu CH, Zhang M, Zhang Y, Xie S, Yu LY. Enhancing Taxol Biosynthesis by Overexpressing a 9-Cis-Epoxy carotenoid Dioxygenase Gene in Transgenic Cell Lines of *Taxus chinensis*. PLANT MOLECULAR BIOLOGY REPORTER. 2012 Oct;30(5):1125-1130.
5. Meng Q, Xiao Z, Yuan H, Xue F, Zhu Y, Zhou X, Yang B, Sun J, Meng B, Sun X, Cheng F. Transgenic mice with overexpression of mutated human optineurin(E50K) in the retina. Mol Biol Rep. 2012 Feb;39(2):1119-24.
6. Li F, Jiang Z, Wang K, Guo J, Hu G, Sun L, Wang T, Tang X, He L, Yao J, Wen D, Qin X, Zhang L. Transactivation of the human NME5 gene by Sp1 in pancreatic cancer cells. Gene. 2012 Jul 25;503(2):200-7.
7. Yanshan Donga, Wenlan Duana, Huixia Hea, Peng Sua, Meng Zhanga, Guanghao Songa, Chunhua Fua, Longjiang Yua. Enhancing taxane biosynthesis in cell suspension culture of *Taxus chinensis* by overexpressing the neutral/alkaline invertase gene. Process Biochemistry. 2015 Apr;50(4):651-660.
8. Zhou ZX, Xu QQ, Bu QT, Liu SP, Yu P, Li YQ. Transcriptome-guided identification of SprA as a pleiotropic regulator in *Streptomyces chattanoogensis*. Appl Microbiol Biotechnol. 2015 Feb;99(3):1287-98.
9. Chen B, Ye Q, Zhou K, Wang Y. Adsorption and separation of HCV particles by novel affinity aptamer-functionalized adsorbent. J CHROMATOGR B. 2016 Apr 1;1017-1018:174-81.
10. Shi L, Chen D, Xu C, Ren A, Yu H, Zhao M. Highly-efficient liposome-mediated transformation system for the basidiomycetous fungus *Flammulina velutipes*. J Gen Appl Microbiol. 2017 Jul 11;63(3):179-185.
11. Awan HM, Shah A, Rashid F, Wei S, Chen L, Shan G. Comparing two approaches of miR-34a target identification, biotinylated-miRNA pull-down vs miRNA overexpression. RNA Biol. 2018 Jan 2;15(1):55-61.
12. Tan S, Wang K, Sun F, Li Y, Gao Y. CXCL9 promotes prostate cancer progression through inhibition of cytokines from T cells. Mol Med Rep. 2018 Aug;18(2):1305-1310.
13. Yuan W, Zhou J, Tong J, Zhuo W, Wang L, Li Y, Sun Q, Qian W. ALBA protein complex reads genic R-loops to maintain genome stability in *Arabidopsis*. Sci Adv. 2019 May 15;5(5):eaav9040.
14. Jiangtao Bai, Yuyang Wang, Jianping Wang, Jianglong Zhai, Feilong He, Guoying Zhu. Irradiation-induced senescence of bone marrow mesenchymal stem cells aggravates osteogenic differentiation dysfunction via paracrine signaling. AM J PHYSIOL-CELL PH. 2020 May 1;318(5):C1005-C1017.;doi:10.1152/ajpcell.00520.2019

Version 2021.09.01