天净沙系列

CAT#:fpb001-telo-B

低温运输，-20℃保存

天净沙

生物素标记的人端粒 DNA 探针（CISH 和印迹杂交专用）

Biotin Labeled Human Telomeric DNA Probe for CISH and Blot Hybridization

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本生物素标记人端粒 DNA 探针为寡聚核苷酸探针，可特异性结合人端粒 DNA 序列，适用于显色原位杂交（CISH）和核酸印迹杂交实验，可实现端粒 DNA 的定性、定位及相对定量分析，适用于石蜡切片、冰冻切片、细胞爬片/涂片等样本的 CISH 检测，以及基因组 DNA 印迹杂交检测。它具有下列特点：

1. 生物素标记稳定性高，信号特异性强。信号稳定持久，便于结果判读与长期存档。
2. 专为端粒检测优化，定位精准，探针设计兼容显色原位杂交和核酸印迹杂交。
3. 操作流程标准化，结果可靠。
4. 本产品仅用于科研。

规格及成分

本产品采用带 logo 热封袋包装

成分	编号	规格	包装
生物素标记人端粒 DNA 探针	fpb001-telo-B	2 μg	0.5 mL 棕色管
使用手册	fpb001-telo-B-sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 1 年。

自备试剂

二甲苯、梯度乙醇，胃蛋白酶、柠檬酸溶液、盐酸溶液、1%/4%多聚甲醛、原位杂交 PBS、洗液等。

使用方法

第一部分：CISH 专用

一、石蜡切片

1. 脱蜡：将切片置于二甲苯中浸没脱蜡 3 次，每次 5 分钟。
2. 复水：依次经 100%、90%、80%、70%乙醇梯度复水，每个梯度 5 分钟，然后用蒸馏水洗涤 2 次，每次 5 分钟。
3. 灭活内源性酶：用 3%双氧水（30%双氧水与蒸馏水 1:9 配制）室温处理切片 10 分钟，蒸馏水浸洗 3 次，每次 5 分钟。
4. 消化：用胃蛋白酶与柠檬酸溶液按 1:25 比例配成工作液，滴加在切片上，37℃水浴锅消化 10 分钟。蒸馏水洗涤 3 次，每次 5 分钟。转第 17 步。

二、冰冻切片

5. 烘片及固定：从-80℃取出冰冻切片，快速转移至预热的烘片机，45℃烘片 10~15 分钟；切片浸入 4℃预冷的 95%乙醇，室温固定 20 分钟；室温静置干燥。
6. 灭活内源性酶：用 3%双氧水（30%双氧水与蒸馏水 1:9 配制）室温处理切片 10 分钟，蒸馏水浸洗 3 次，每次 5 分钟。。
7. 消化：用胃蛋白酶与柠檬酸水按 1:25 比例配成工作液，滴加在切片上，37℃水浴锅消化 10 分钟。蒸馏水洗涤 3 次，每次 5 分钟。

	8. 再固定：1%多聚甲醛室温固定 10 分钟；1×PBS 清洗切片 1 次，5 分钟。转第 17 步。 三、细胞爬片 9. 固定：细胞爬片置于 6 孔板中，加入 4%多聚甲醛室温固定 30 分钟；蒸馏水室温洗涤 2 次，每次 5 分钟；每孔加入 1 mL DEPC 水洗涤 2 次，每次 5 分钟。 10. 灭活内源性酶：用 3%双氧水（30%双氧水与蒸馏水 1:9 配制）室温处理爬片 10 分钟，蒸馏水浸洗 3 次，每次 5 分钟。 11. 通透：用胃蛋白酶与柠檬酸水按 1:25 比例配成工作液，滴加在爬片上，37℃水浴锅消化 10 分钟。蒸馏水洗涤 3 次，每次 5 分钟。 12. 再固定：1%多聚甲醛室温固定 10 分钟；蒸馏水洗 2 次，每次 5 分钟。转第 17 步。 四、细胞涂片 13. 固定：细胞沉淀中加入 4%多聚甲醛，充分悬浮后，室温固定 20 分钟；加入 1 mL DEPC 水洗涤 2 次，每次 5 分钟。 14. 涂片：根据细胞量添加适量的 1×PBS，使细胞终浓度为 10^6 个/mL；玻片上每个杂交区域滴加 10 μL 细胞悬液，涂抹均匀；将涂好的玻片移至预热的烘片机，56℃烘片 30 分钟。 15. 通透：用胃蛋白酶与柠檬酸水按 1:25 比例配成工作液，滴加在涂片上，37℃水浴锅消化 10 分钟;蒸馏水洗涤 3 次，每次 5 分钟。 16. 再固定：1%多聚甲醛室温固定 10 分钟；蒸馏水洗 2 次，每次 5 分钟。 17. 预杂交：玻片置于玻片架风干 10~20 分钟；滴加 20~40 μL 预杂交液，覆盖封片膜，37℃预杂交 2~4 小时。（注：预杂交液用量视样本大小而定；滴加预杂交液后保持载玻片湿润以防非特异性结合） 18. 配制杂交体系：将生物素标记的人端粒 DNA 探针与杂交液按 1：39 比例混合（1 μL 探针+39 μL 杂交液），充分混匀，置冰上备用。 19. 变性与杂交：揭去封片膜，轻轻甩干预杂交液；滴加 20~40 μL 杂交反应液于样本上；盖膜后 75℃共变性 5~10 分钟；快速转移至 42℃杂交过夜（16~20 小时）。 20. 洗脱：杂交后，使用预热的 2× SSC 洗液，洗涤 1 次，5 分钟，0.5× SSC 洗液，洗涤 1 次，5 分钟以洗去未结合的探针。（注：洗液用量视样本大小而定，浸没泡洗） 21. 封闭：用纸巾将组织周围的水渍轻轻擦拭干净，滴加 20~40 μL 封闭液，覆盖封

	片膜，37℃封闭 30 分钟；使用原位杂交 PBS 洗涤 4 次，每次 5 分钟。 22. 本试剂盒探针为生物素标记，可兼容市面所有生物素亲和系统显色试剂（如链霉亲和素-HRP/AP、亲和素-酶复合物等），后续根据实验类型（CISH/印迹杂交）、检测需求（显色/化学发光）选择对应显色体系。 第二部分：印迹杂交专用 23. 核酸电泳：提取的人基因组 DNA，选择合适的限制性内切酶（如常用于端粒长度分析的 HinfI 或 RsaI）对基因组 DNA 进行完全消化。将酶切完全的 DNA 样品与上样缓冲液混合，进行琼脂糖凝胶电泳，至条带分离清晰。 24. 凝胶处理：电泳结束后，在紫外灯下短暂观察，确认 DNA 已充分分离，并标记分子量标准的位置。对凝胶进行脱嘌呤、碱变性和中和处理，以促进大片段 DNA 的转移效率。脱嘌呤（可选，适用于>10 kb 片段）：在 0.25 M HCl 中轻轻摇动浸泡 15~20 分钟。碱变性：在变性溶液（0.5 M NaOH, 1.5 M NaCl）中浸泡两次，每次 15 分钟。中和：在中和溶液（0.5 M Tris-HCl, 1.5 M NaCl, pH 7.4）中浸泡两次，每次 15 分钟。 25. 转膜：采用毛细管法/湿转法，将凝胶中的 DNA 转移至尼龙膜，4℃转膜过夜。 26. 膜固定：尼龙膜经紫外交联固定（120 mJ/cm2），或将 DNA 面朝上置于 80℃烘箱中烘膜 1 小时，使 DNA 不可逆地共价交联于膜上。 27. 预杂交：将固定好的膜置于杂交管中，加入预热的预杂交液，42℃，10 r/min 杂交箱预杂交 2 小时。 28. 探针杂交：将生物素标记的人端粒 DNA 探针与杂交液按 1：39 比例混合（1 μL 探针+39 μL 杂交液），混匀。弃去膜中的预杂交液，迅速加入含有探针的杂交液中。在杂交箱中，42℃，10 r/min 下杂交过夜。 29. 洗膜：杂交结束后，弃去杂交液。用 2× SSC 室温洗涤 2 次，每次 5 分钟；接着使用 0.5× SSC，在杂交温度下洗涤 2 次，每次 15 分钟。 30. 封闭：将膜从洗涤液中取出，转移至一个盛有封闭液（1× PBS 或 Tris-HCl 缓冲液）的平皿中。室温下在摇床上封闭 30~60 分钟，以阻断膜上剩余的非特异性蛋白结合位点。 31. 本试剂盒探针为生物素标记，可兼容市面所有生物素亲和系统显色试剂（如链霉亲和素-HRP/AP、亲和素-酶复合物等），后续根据实验类型（CISH/印迹杂交）、检测需求（显色/化学发光）选择对应显色体系。
关联产品	人端粒酶活性检测试剂盒（TRAP PCR 探针法）