天净沙系列

CAT#:220169

常温运输和保存

天净沙

DNA-RNA 两用印迹膜转膜试剂盒

DNA-RNA Dual-purpose Blotting Kit

使用手册 V1.02

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

天净沙 DNA-RNA 两用印迹膜转膜试剂是基于毛细管转膜法的 Southern 和 Northern 印迹膜制备试剂，专门是从电泳得到的凝胶中制备用于 Southern 杂交和 Northern 杂交的印迹膜。本产品具有下列特点：

1. 即开即用，提供制备 5 次 Southern 或 Northern 转膜（13×20 cm）所需要的转膜液。
2. 快速：转膜过程只需要 1 小时，整个过程（加上变性和中和等步骤）只需要 2.5 小时(对 DNA)或 1.5 小时（对 RNA）。
3. 跟硝酸纤维素膜、带电尼龙膜、中性尼龙膜和 PVDF 膜兼容。包括 Nytron、Gene Screen Plus、Zetabind、Biotrans、Hybond-N、Immobilon 等。
4. 硝酸纤维素膜适用于最小长度在 400 bp 以上的靶分子，带电尼龙膜适用于最小长度在 40 bp 以上的靶分子。
5. 使用优化的下向转膜法，不但效率比上行转膜法高 30%左右，而且条带弥散度低、分辨率高。
6. 可用琼脂糖胶（包括脉冲电泳胶，DNA 电泳、RNA 甲醛胶电泳和 RNA 戊二醛电泳）和 DNA PAGE 胶。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
DNA-RNA 两用印迹膜转膜成分 A	220169a	660 g	1 L 本色瓶
DNA-RNA 两用印迹膜转膜溶液 B	220169b	6 mL	10 mL 本色瓶
DNA-RNA 两用印迹膜转膜中和液	220169c	50 mL×5	60 mL 本色瓶
使用手册	220169sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存,保存期限一年。

自备试剂

琼脂糖电泳试剂、去离子水、印迹膜（硝酸纤维素膜或尼龙膜）

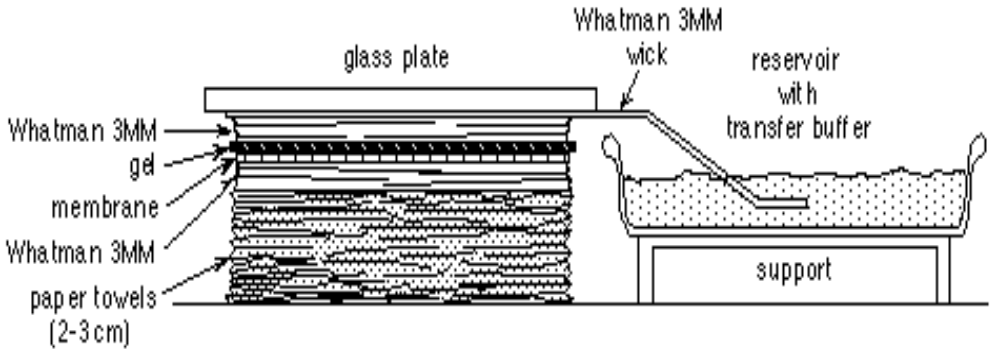
使用方法

一：Southern 印迹膜的制备（DNA 转膜，中性尼龙膜，硝酸纤维素膜）

1. 按常规方法进行电泳（包括脉冲电泳），本试剂盒不提供电泳所需试剂。如果进行常规的 Southern 杂交，建议使用 0.7%琼脂糖进行电泳，分离酶切的基因组 DNA。电泳时最好加电泳分子量对照、酶切对照（先将标记的全长 lambda DNA 或探针质粒与样品 DNA 的混合，再酶切）、阴性样品（不含检测片段的 DNA 样品）、杂交分子量对照（标记的 lambda/Hind III）等。电泳后和荧光标尺并排拍照。
2. 变性：首次使用时需配制变性液 2.5 L（在 3 L 的干净玻璃烧杯中加入约 2 L 自备的去

离子水，搅拌缓慢中加入 220 g DNA-RNA 两用印迹膜转膜成分 A 和 5 mL DNA-RNA 两用印迹膜转膜溶液 B，溶解后定容到 2.5 L 后即可用），将凝胶转移到一个至少含 10 倍于胶体积的变性液中，脱色摇床上室温下摇晃处理 60 分钟（如果使用带正电尼龙膜，此步处理可以缩短到 30 分钟）。未用完的变性液可放瓶中室温保存。

3. 配制转膜液：如果使用带正电的尼龙膜，则直接用上步配制的变性液转膜，如果使用中性尼龙膜和硝酸纤维素膜，则需配置转膜液（在 3 L 的干净玻璃烧杯中加入约 2 L 自备的去离子水，缓慢搅拌中加入 440 g DNA-RNA 两用印迹膜转膜成分 A 和 0.1 mL DNA-RNA 两用印迹膜转膜溶液 B，溶解后定容到 2.5 L 后即可用）。将凝胶转移到至少 10 倍于凝胶体积的转膜液中，脱色摇床上室温下摇晃处理 15 分钟。
4. 设置转膜体系：测量凝胶的大小，然后借助尺子准确切出一张印迹膜，每边比凝胶大 1 mm，并切去一角，将印迹膜漂浮于去离子水上 20 分钟确保全部湿润，再按下图设置下行转膜体系（比上行转膜体系效率高 30%）。图中 membrane 即印迹膜，transfer buffer 即转膜液，吸水滤纸厚度为 2-3 cm，一般按每 cm^2 印迹膜需要 1 mL 转膜液的比例准备转膜液。对大的凝胶，可以同时使用两张滤纸分别跟两个容器的转膜液连接以便使转膜匀浆。



5. 洗胶：凝胶转移到一个含至少 10 倍于胶体积的转膜液中，脱色摇床上室温下摇晃处理 15 分钟。
6. 转膜：常温转膜 1 小时。结束后用铅笔标记印迹膜的核酸结合面以免搞错。注意：不要过夜转膜，否则信号将降低 50%。
7. 中和：将印迹膜在 DNA-RNA 两用印迹膜转膜中和液中处理 10 分钟，DNA-RNA 两用印迹膜转膜中和液的用量至少为 0.5 mL/cm^2 印迹膜。中和液容易长细菌，不建议长期放置。
8. 检测效果：可将凝胶放入 EB（0.5 μg/mL）溶液中染色 30 分钟后 UV 下观察残留核酸的量，反推转膜效率。此步也可跳过。也可以另购印迹膜染液处理印迹膜，日光下观察转膜效果。

	9. 固定：将印迹膜夹在两层滤纸中间 80℃干燥 15 分钟以固定核酸（不需真空），干燥时间不需延长，否则杂交信号可能会降低。 10. 此时印迹膜可直接用于后续的核酸杂交实验或者在干燥状态下保存待用（可放数月）。 **二：Southern 印迹膜的制备（带正电尼龙膜，DNA 转膜）** 11. 电泳步骤同第 1 步。 12. 变性：同第 2 步，只是时间缩短到 30 分钟。 13. 配制转膜液：不需配制，直接用变性液转膜。 14. 其余处理同第 4 步到第 10 步。 **三：Northern 印迹膜的制备（RNA 转膜）** 15. 按常规方法进行电泳，本试剂盒不提供电泳所需试剂。本方法适用于甲醛变性胶和乙二醛变性胶，电泳后和荧光标尺并排拍照。 16. 凝胶不需要变性和洗胶处理（也不能变性，否则 RNA 将会降解），电泳后直接进入转膜步骤，完全按第 6 到第 10 步处理。
关联产品	可逆型印迹膜蛋白染色液（丽春红 S 法）