



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

## Biotin Northern Blot Kit

产品编号	产品名称	包装
R0219	Biotin Northern Blot Kit	1000cm <sup>2</sup>

### 产品简介:

- 碧云天生产的Biotin Northern Blot Kit, 即生物素Northern检测试剂盒或生物素标记探针Northern Blot检测试剂盒, 包含了基于生物素标记探针进行Northern检测所需的凝胶制备、上样、电泳、转膜、预杂交和杂交、膜的洗涤、生物素标记探针的化学发光检测等一系列试剂, 为基于生物素标记探针的Northern检测提供了比较完整的解决方案, 使非常繁琐的Northern检测变得相对比较简单易行。
- 本试剂盒使用了BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution, 仅需2小时就可以完成探针的高效杂交。
- 本试剂盒提供了超高灵敏度的化学发光检测试剂BeyoECL Moon, 可以借助Streptavidin-HRP和生物素标记探针的结合, 实现Northern的超高灵敏度检测。
- 本试剂盒提供的Northern快速超敏杂交液, 含有独特的杂交加速试剂(hybridization accelerator), 可以大大提高杂交速度和检测灵敏度, 通常杂交2h即可达到杂交过夜的效果。
- Northern检测方法在1977年由斯坦福大学James Alwine、David Kemp和George Stark发明, 可用于检测RNA的大小、丰度和电泳时的迁移位置等[1, 2]。由于DNA Blot以其发明人Edwin Southern的名字命名为“Southern Blot”, 与其类似的RNA Blot因此被命名为“Northern Blot” [1, 2]。Northern Blot包括以下主要步骤: RNA样品的分离与纯化, RNA样品的变性或非变性凝胶电泳, 将凝胶中的RNA样品转印至尼龙膜或硝酸纤维素膜上, 预杂交, 与带有标记的特异核酸探针(DNA或RNA探针)杂交, 最后经放射自显影、化学发光或显色的方法进行探针的检测[1, 2]。其中基于化学发光的Northern检测, 灵敏度非常高, 又无需接触对于人体有伤害的放射性同位素, 目前被广泛使用。
- Northern检测用于定性和定量检测目的RNA时, 比qPCR或高通量测序要繁琐很多。Northern相对于qPCR和高通量测序, 最大的优势是通过印迹检测确定目的RNA的长度或者说是电泳时的迁移位置, 并且不受小RNA末端修饰的影响[2, 3]。qPCR很难确定目的RNA的长度, 高通量测序会受读长以及RNA末端修饰的影响[2, 3]。
- RNA具有复杂的二级结构, 会影响RNA的凝胶电泳分离和鉴定, 可在凝胶中加入变性剂如甲醛、乙二醛等, 可以破坏RNA的二级结构, 从而使RNA分子严格按照电荷迁移的方式得到有效分离。
- 本试剂盒不包括生物素标记探针制备相关试剂。生物素标记探针的制备, 推荐选购碧云天的生物素3'末端DNA标记试剂盒(D3106)或生物素随机引物DNA标记试剂盒(D3118)以制备生物素标记的Oligonucleotide或DNA探针, 或选择其它适当方式制备生物素标记探针。
- 本试剂盒提供的试剂量基本足够10个100cm<sup>2</sup>或20个50cm<sup>2</sup>的印迹膜样品的检测。个别试剂如果需要更多的量, 也可以单独向碧云天订购相关产品。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0219-1	Agarose	10g
R0219-2	MOPS Gel Running Buffer (10X)	500ml
R0219-3	RNA Loading Buffer (2X)	2ml
R0219-4	SSC (20X)	500ml×2
R0219-5	BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution	250ml
R0219-6	Low Stringency Wash Solution	500ml
R0219-7	High Stringency Wash Solution	500ml
R0219-8	Streptavidin-HRP Conjugate	100μl
R0219-9	BeyoECL Moon A液	55ml
R0219-10	BeyoECL Moon B液	55ml
R0219-11	封闭液	380ml
R0219-12	洗涤液(5X)	250ml
R0219-13	检测平衡液	250ml
—	说明书	1份

## 保存条件：

-20°C保存，一年有效。MOPS Gel Running Buffer (10X)、BeyoECL Moon A液、BeyoECL Moon B液，可以4°C避光保存，一年有效。封闭液、洗涤液(5X)及检测平衡液，可以4°C保存，一年有效。Agarose、SSC (20X)、BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution、Low Stringency Wash Solution、High Stringency Wash Solution可以室温或4°C保存，至少一年有效。

## 注意事项：

- BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution和Low Stringency Wash Solution在较低温度下容易有沉淀析出。如有沉淀出现，可在42°C水浴孵育，并在充分溶解后使用。
- 需自备带正电荷尼龙膜、转印滤纸、转印吸水纸、杂交袋或杂交管、甲醛等材料和试剂。推荐选购碧云天的尼龙膜(带正电荷)(FFN10/FFN11/FFN13/FFN15)、转印滤纸(7.5×10cm)(FFP51)、转印吸水纸(FFP56)。
- 实验中用到的吸头、离心管等实验耗材必须为RNase free的，推荐选购碧云天的BeyoGold™系列中无RNase和DNase污染的耗材产品。不含RNase的超纯水推荐使用碧云天的ST876 BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)或R0021/R0022 DEPC水(DNase、RNase free)。
- 试剂盒中的个别组分如果需要更多的量，也可以单独订购碧云天的ST004L Agarose, R0221 MOPS Gel Running Buffer (10X, DNase/RNase free), R0216 DNA/RNA Denaturing Loading Buffer (2X)(可用于替代 R0219-3 RNA Loading Buffer (2X)), R0227 SSC (20X, DNase/RNase free), R0229 BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution, R0251 Low Stringency Wash Solution (DNase/RNase free), R0253 High Stringency Wash Solution (DNase/RNase free), P0018F BeyoECL Moon (极超敏 ECL 化学发光试剂盒), D3308B 封闭液(D3308 专用)和 D3308W 洗涤液(5X, D3308 专用)用于替换试剂盒中的相应试剂。
- 桌面等环境以及仪器设备表面的RNase、DNase、RNA和DNA的去除推荐使用碧云天的R0127 RNase, DNase, DNA and RNA Away进行快速处理。
- RNA Loading Buffer (2X)、BeyoECL Moon A液、BeyoECL Moon B液均对人体有害，操作时请小心，注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 操作过程中，如果膜放置在容器中，需要确保膜的样品面向上。膜的取放推荐使用平头镊，推荐选购碧云天的FS035 WB专用镊子(12cm, 翘方头)，每次取放膜不能触及有样品处。膜的一角可以使用铅笔进行标记或剪掉一小角进行标记，以确定膜的样品面和上下左右方位。
- 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. Northern实验前的准备工作。

- 特别注意事项。**环境中的核糖核酸酶(RNase)很多是非常稳定并且活性比较高的酶，通常不需要辅因子就能发挥酶活性。由于环境中的RNase较难充分失活，并且很小的残留量就足以导致样品RNA的降解。因此在Northern Blot等涉及RNA操作的实验中要特别注意RNase污染问题。
- 操作规范要点。**建议戴一次性乳胶手套、穿洁净工作服，并戴口罩操作，如果能戴一次性帽子操作更好。尽量在人员较少的僻静处进行RNA操作，避免人体表面的RNase污染。操作时尽量避免说话、咳嗽等可能导致体液污染样品的情况。尽量避免在实验室中进行DNA操作的区域进行RNA操作，因为通常质粒提取、质粒电泳等DNA操作区域有大量的RNase A污染存在。RNA电泳区域通常宜远离DNA电泳区域。保持手套、工作服洁净非常关键，手套被环境污染后会成为RNase的污染源，多天未洗涤的工作服表面也是RNase的污染源。
- 相关溶液、耗材、器皿须确保无RNase污染，操作环境也须尽量达到无RNase污染。**实验中用到的吸头、离心管、RNA电泳、转膜、杂交和检测涉及的器具和相关溶液都必须是无RNA酶污染的(RNase free)产品。推荐使用碧云天生产的BeyoGold™系列中明确标注RNase free的耗材产品。实验中用到的玻璃或塑料器具也必须进行RNase free处理，仪器设备、桌面等表面也尽量进行RNase free处理。推荐清洗或擦拭后使用碧云天生产的R0127 RNase, DNase, DNA and RNA Away参考产品说明书通过喷雾处理快速、便捷、高效地清除实验仪器、设备、器具表面的RNase污染。RNase, DNase, DNA and RNA Away处理后，仪器设备等表面可以使用洁净纸巾擦拭干净，和样品直接接触的器具表面可以使用不含RNase的超纯水适当冲洗数次。不含RNase的超纯水推荐使用碧云天的ST876 BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)或R0021/R0022 DEPC水(DNase、RNase free)。涉及的溶液、耗材和器皿也可以采用常规的DEPC处理的方法，以充分去除RNase污染。

### 2. RNA样品的准备。

推荐使用R0026/R0027 RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)等RNAeasy™系列抽提试剂盒，或使用R0011 Beyozol (总RNA抽提试剂)或R0016 Trizol (总RNA抽提试剂)抽提待检测的RNA样品，-80°C保存备用。抽提好的总RNA样品可以快速使用1%琼脂糖凝胶电泳(以TAE作为电泳液)验证其完整性，并通过检测A260、A280等吸光度以判断RNA样品的纯度。

### 3. RNA样品的甲醛变性琼脂糖凝胶电泳。

- 制备1%甲醛变性琼脂糖凝胶。**对于需要制备100ml凝胶的情况，准确称量1g本试剂盒提供的Agarose (琼脂糖)，加入72ml不含RNA酶的超纯水。微波炉加热至琼脂糖完全溶解。在通风橱中冷却至60°C左右，加入10ml MOPS Gel Running Buffer (10X)和18ml 37%甲醛，混匀后倒入制胶模具中，最后插上梳子，冷却备用。制作不同浓度凝胶可以调整琼脂糖的用量，制备不同大小的凝胶可按此比例调整各组分的用量。如果希望配制非变性胶，推荐使用TBE配制凝胶，并且使用TBE作为电泳液，同时需要使用非变性的RNA上样缓冲液。TBE推荐选购碧云天的R0223 TBE (5X, DNase/RNase free)，使用不含

DNase/RNase的超纯水稀释成1X后使用。

注：超纯水推荐使用碧云天的ST876 BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)。

- RNA样品变性预处理。**取RNA样品加入等体积或2-3倍体积的RNA Loading Buffer (2X)，混匀后置于65°C加热变性15min后立即转移至冰上。注：通常加入等体积的RNA Loading Buffer (2X)即可，但如果为了使RNA样品更充分变性，可以把用量提高到2-3倍体积。
- 配制电泳缓冲液。**取适量MOPS Gel Running Buffer (10X)，使用超纯水稀释10倍作为电泳缓冲液。
- 放置凝胶与添加电泳缓冲液。**在通风橱中，将制备好的甲醛变性胶放置于电泳槽中，加入适量的电泳缓冲液至液面超过凝胶0.5-1cm。
- RNA样品上样。**根据需要上样适当体积的RNA样品。如有必要，在适当泳道中加入RNA Marker。通常每个样品的上样量控制在2-20μg范围内会比较理想，上样量越大通常越容易检测到目的RNA。如果样品非常有限或者目的RNA的丰度特别高，也可以尝试使用更少量的RNA。
- RNA电泳。**在电压4-5V/cm条件下电泳，直至溴酚蓝染料移动至凝胶约2/3处。  
注：电泳缓冲液在长时间电泳时pH值会发生变化，如果出现电泳时间超过3h的情况，需要更换电泳液后再继续电泳。电泳结束后可以使用NA-Red (EB升级换代产品, 2000X) (D0128/D0130)对凝胶进行染色，以观察和确认电泳效果。

#### 4. RNA 转膜与交联。

RNA电泳完毕后，通常需将RNA样品从凝胶转移至带正电荷的尼龙膜上。可采用向上毛细管法、向下毛细管法、真空转印系统等方法实现RNA样品的转印。后续是向上毛细管法的操作步骤和方法，向上毛细管法的示意图请参考图1。

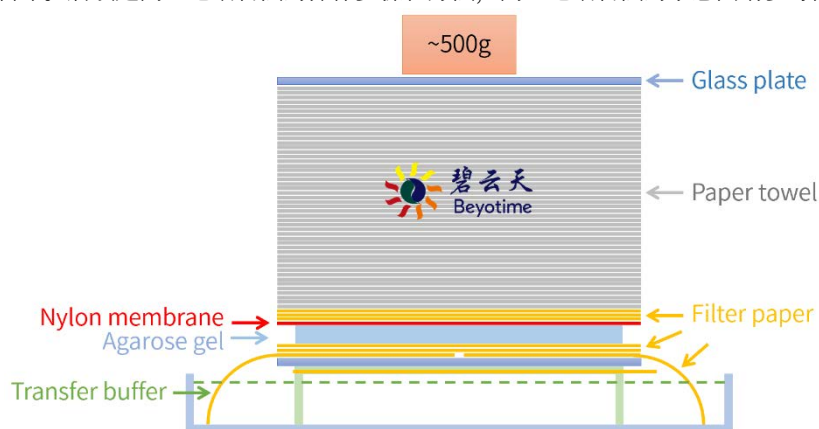


图 1. 向上毛细管法转膜体系搭建示意图。

- RNA凝胶的漂洗。**如果使用的是甲醛变性凝胶，将电泳完毕后的凝胶置于一洁净容器中，使用SSC (20X)漂洗两次，每次15min，以充分去除甲醛。如果使用的不是甲醛变性凝胶，可以仅使用SSC (20X)漂洗15min一次。
- 配制转膜液。**使用不含RNA酶的超纯水将SSC (20X)稀释为SSC (10X)，作为转膜液。
- 转膜体系的搭建。**参考图1搭建转膜体系。
  - 转膜底座的搭建。**向一适当大小容器(例如直径为15-20cm的培养皿)中放入一个倒置的洁净10cm培养皿，培养皿上边放置一比凝胶略大的洁净玻璃板。也可以直接在培养皿中放置大小和高度比较适合的吸水海绵。
  - 加入转膜液。**向容器内倒入适量转膜液，即SSC (10X)。
  - 放置两侧吸液的转印滤纸。**玻璃板上侧对称放2张用转膜液充分湿润的转印滤纸，滤纸的一端放置在玻璃板的中间位置，另一端浸入转膜液中。放置后的效果类似于两张拼接在一起的长滤纸，中间在玻璃板上，两侧在转膜液中。推荐使用碧云天的转印滤纸(7.5×10cm) (FFP51)。如果感觉两侧的滤纸过长，可以适当折叠或剪切。
  - 放置底层滤纸。**在两侧吸液的转印滤纸的上侧再放置1-2张用转膜液充分湿润的转印滤纸。
  - 放置凝胶。**将RNA凝胶放置在湿润的转印滤纸上，注意凝胶和转印滤纸之间不能有气泡。
  - 放置尼龙膜。**裁剪一张与凝胶尺寸相同或略大的带正电荷尼龙膜，将其用转膜液浸润，然后放置在凝胶上，注意尼龙膜和凝胶之间不能有气泡。注：尼龙膜(带正电荷) (FFN10/FFN11/FFN13/FFN15)可以向碧云天订购。尼龙膜的取放推荐使用平头镊，推荐选购碧云天的FS035 WB专用镊子(12cm，翘方头)，每次取放膜不能触及有样品处。尼龙膜的一角可以使用铅笔进行标记或剪掉一小角进行标记，以确定膜的样品面和上下左右方位。
  - 放置上侧滤纸。**在尼龙膜上方放置2张用转膜液充分湿润的转印滤纸，避免膜和滤纸之间有气泡。
  - 放置转印吸水纸。**在转印滤纸上方放置至少5cm厚度的转印吸水纸。转印吸水纸(FFP56)可以向碧云天订购，也可以自行裁剪与凝胶尺寸相同或略大的吸水纸(可以使用普通的纸巾或草纸)。
  - 放置玻璃板和重物。**在其上方放置一块尺寸相当或略大的玻璃板或塑料板，最后在玻璃板上方的中央处平稳放置约500g重物，例如可以使用天平的砝码或者盛放了近500ml水的塑料瓶等。整个转膜体系一定要确保放置平稳，尽量避免出现可能的倾倒。
- 转膜。**转膜体系搭建完成后，室温转膜约16-18小时。
- 漂洗尼龙膜并晾干。**从转膜体系中取出尼龙膜，使用SSC (2X)漂洗尼龙膜以除去可能残留的琼脂糖凝胶碎片，室温晾干。
- 紫外交联。**用紫外交联仪(UV-light cross-linker)选择254nm紫外波长，120mJ/cm<sup>2</sup>，交联30-45秒，把RNA固定在尼龙膜上。后续如果不立即使用，可将尼龙膜用保鲜膜包裹，至少可在室温存放2-3天或在4°C存放1-2周。

注：如果没有紫外交联仪可以使用普通的手提式紫外灯(例如碧云天的手提紫外检测仪(EUV002))，距离膜 5-10 厘米左右照射 1-5 分钟。也可以使用超净工作台内的紫外灯，距离膜 5-10 厘米左右照射 1-10 分钟。最佳的交联时间可以自行摸索。例如裁剪长宽分别约 1.6cm 和 0.8cm 的长方形尼龙膜若干；取总 RNA 样品，配制成约 0.1-1 $\mu$ g/ $\mu$ l，每个尼龙膜上点 2 个点，每个点加入 1 $\mu$ l RNA 样品，晾干；然后分别进行不同时间的交联。交联完后可以使用生物素标记的 Actin 等内参探针在离心管内进行点杂交，以确定比较理想的交联时间。

## 5. 预杂交与杂交。

- 探针的准备。**提前准备生物素标记探针，并进行定量。可选用生物素 3' 末端 DNA 标记试剂盒(D3106)或生物素随机引物 DNA 标记试剂盒(D3118)制备生物素标记的 Oligonucleotide 或 DNA 探针，或选择其它适当方式准备好生物素标记探针。双链 DNA 探针使用前需进行变性处理，将其置于 95-100 $^{\circ}$ C 变性 5min，立即放入冰水中冷却 2min 备用。单链 DNA、RNA 或 Oligonucleotide 探针无需进行变性处理，可直接使用。
- 杂交液的预热。**按照每 100cm<sup>2</sup> 尼龙膜每次使用 10ml BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution 进行预杂交或杂交的用量，取适量杂交液预热至预杂交和杂交的温度。预杂交或杂交的温度可参照下表。后续每种溶液的用量均按照 100cm<sup>2</sup> 尼龙膜计算，不同大小的膜每种溶液的用量可以按比例增减。本试剂盒提供的 BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution，可用于 RNA 样品与 DNA、RNA 或 Oligonucleotide 探针的杂交，也可以用于 Southern 杂交。

Probe type	Prehyb/Hyb temperature
> 50 nt/bp DNA probes	42 $^{\circ}$ C
> 50 nt RNA probes	68 $^{\circ}$ C
$\leq$ 50 nt oligonucleotide	37-42 $^{\circ}$ C

- 预杂交。**将转印了RNA样品的尼龙膜置于杂交管或杂交袋中，加入10ml预热的杂交液，置于杂交炉或摇床中，参考上表推荐的温度预杂交2h。
- 配制含探针的杂交液。**在预热至杂交温度的 10ml 杂交液中，加入探针并混匀。DNA、RNA、Oligonucleotide 探针推荐的终浓度分别为 25ng/ml，100ng/ml，1-10pmol/ml。注：双链 DNA 探针必须参考步骤 5a 变性后使用。
- 杂交。**预杂交结束后弃去溶液，加入含探针的杂交液，在杂交温度摇动杂交2h或过夜。
- 膜的低严谨洗涤。**杂交结束后，取出尼龙膜置于适当大小的容器内，加入20ml Low Stringency Wash Solution，室温洗涤两次，每次5min。
- 膜的进一步洗涤。**弃去上一步骤的溶液，进行高严谨洗涤。对于DNA或RNA探针，加入20ml High Stringency Wash Solution，在杂交温度下洗涤两次，每次15min；对于Oligonucleotide探针，加入20ml Low Stringency Wash Solution，在42 $^{\circ}$ C摇动洗涤2min即可。

## 6. 生物素标记探针的检测。

- 封闭液和洗涤液的准备。**37-50 $^{\circ}$ C水浴溶解封闭液和洗涤液(5X)，取适量洗涤液(5X)，用不含DNase和RNase的超纯水稀释5倍配制成洗涤液。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 $^{\circ}$ C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。
- 尼龙膜的首次洗涤。**将上述步骤的尼龙膜放入适当容器内，按照每100cm<sup>2</sup>尼龙膜使用约20ml洗涤液的比例，加入适量洗涤液，室温摇动洗涤5min。后续每种溶液的用量均按照100cm<sup>2</sup>尼龙膜计算，不同大小的膜每种溶液的用量可以按比例增减。
- 尼龙膜的封闭。**去除洗涤液，加入15ml封闭液，加入适量封闭液室温摇动封闭15min。注：从本步骤起操作方法和注意事项同化学发光法生物素标记核酸检测试剂盒(D3308)。
- Streptavidin-HRP溶液的配制。**取7.5 $\mu$ l Streptavidin-HRP Conjugate加入到15ml封闭液中(1:2000稀释)，混匀备用。
- 尼龙膜与Streptavidin-HRP溶液的孵育。**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15min。
- 尼龙膜的快速漂洗。**将尼龙膜转移至另一装有15-20ml洗涤液的容器内，漂洗1min。
- 尼龙膜的充分漂洗。**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洗涤5min。
- 尼龙膜的重复漂洗。**重复上一步骤6g三次(共洗涤四次)，每次洗涤时间均约为5min。
- 尼龙膜的平衡。**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5min。
- BeyoECL Moon工作液的配制。**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。注：从本步骤起操作方法和注意事项同Western实验的化学发光检测。
- BeyoECL Moon与尼龙膜的孵育。**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。在尼龙膜的表面小心加上上一步骤配制好的共10ml BeyoECL Moon工作液，使工作液完全覆盖尼龙膜。室温放置2-3min。
- 化学发光检测。**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，使用BeyoImager™ 600化学发光成像系统或类似的化学发光成像系统进行成像。或者将放在两片保鲜膜或其它适当的透光薄膜中的尼龙膜固定于压片暗盒(也称片夹)内。用X光片压片1-5min。可以先压片1min，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30s、1、3、5min或更长时间，然后一起显影定影观察结果。

## 7. 探针的去除和膜的洗涤。

- 生物标记探针的去除。**对于需要去除探针，再次进行Northern检测内参等RNA的情况，在上述化学发光检测之后，需要确保尼龙膜不会干燥。干燥后对于去除标记探针会带来很大的困难。对于生物素标记的DNA探针的去除。  
(a) **生物素标记DNA探针的去除。**最优先推荐使用碧云天生产的RNase，DNase and DNA Away (R0125)。使用TE (Tris-EDTA

缓冲液, RNase/DNase free)或SSC (2X)洗涤尼龙膜约5min, 去除液体, 并吸净残留液体, 在尼龙膜的探针结合表面喷洒RNase, DNase and DNA Away, 使尼龙膜表面被液体充分覆盖, 室温孵育15分钟。也可以使用碧云天生产的Northern Blot Stripping Solution (Mild) (R0262)、Northern Blot Stripping Solution (Moderate) (R0266)或Northern Blot Stripping Solution (Harsh) (R0268)这三种Northern探针去除液之一, 参考产品说明书进行探针的去除。优先推荐尝试Northern Blot Stripping Solution (Moderate) (R0266), 如果去除效果欠佳可以尝试去除效果更强但操作不是很方便的Northern Blot Stripping Solution (Harsh) (R0268)。如有需要也可以使用去除效果更加温和的Northern Blot Stripping Solution (Mild) (R0262)。

**(b) 对于生物素标记RNA探针的去除。推荐使用碧云天生产的Northern Blot Stripping Solution (Mild) (R0262)、Northern Blot Stripping Solution (Moderate) (R0266)或Northern Blot Stripping Solution (Harsh) (R0268)这三种Northern探针去除液之一, 参考产品说明书进行探针的去除。优先推荐尝试Northern Blot Stripping Solution (Moderate) (R0266), 如果去除效果欠佳可以尝试去除效果更强但操作不是很方便的Northern Blot Stripping Solution (Harsh) (R0268)。如有需要也可以使用去除效果更加温和的Northern Blot Stripping Solution (Mild) (R0262)。**

b. **尼龙膜的洗涤。**去除探针的溶液, 使用SSC (2X)室温洗涤尼龙膜3次, 每次5min, 注意每次洗涤都吸净残留液体。随后可以短期4°C保存在SSC (2X)中备用, 或者进行预杂交、杂交等后续的内参等目的RNA的Northern检测步骤。

## 参考文献:

1. Sabelli PA, Shewry PR. Methods Mol Biol. 1995;49:213-28.
2. Segundo-Val IS, Sanz-Lozano CS. Methods Mol Biol. 2016;1434:29-43.
3. Dave VP, Ngo TA, Pernestig AK, Tilevik D, Kant K, Nguyen T, Wolff A, Bang DD. Lab Invest. 2019 Apr;99(4):452-469.

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D3106	生物素3'末端DNA标记试剂盒	20次
D3118	生物素随机引物DNA标记试剂盒	10次
R0206-100µl	Small RNA Ladder (10-50nt, 9 bands)	100µl
R0211	DNA/RNA Native Loading Buffer (10X)	2/10ml
R0212	DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE)	2/10ml
R0215-1ml	2X RNA Loading Buffer	1ml
R0216	DNA/RNA Denaturing Loading Buffer (2X)	2/10ml
R0219	Biotin Northern Blot Kit	1000cm <sup>2</sup>
R0220	Biotin Northern Blot Kit (for Small RNA)	1000cm <sup>2</sup>
R0221-500ml	MOPS Gel Running Buffer (10X, DNase/RNase free)	500ml
R0223-500ml	TBE (5X, DNase/RNase free)	500ml
R0225	TE (Tris-EDTA Buffer, DNase/RNase free)	100/500ml
R0227-500ml	SSC (20X, DNase/RNase free)	500ml
R0229-500ml	BeyoHyb™ Quick Hybridization Solution	500ml
R0251-500ml	Low Stringency Wash Solution (DNase/RNase free)	500ml
R0253-500ml	High Stringency Wash Solution (DNase/RNase free)	500ml
R0262-250ml	Northern Blot Stripping Solution (Mild)	250ml
R0266-250ml	Northern Blot Stripping Solution (Moderate)	250ml
R0268-250ml	Northern Blot Stripping Solution (Harsh)	250ml
A0303	辣根过氧化物酶标记Streptavidin	0.2ml
P0018F	BeyoECL Moon (极超敏ECL化学发光试剂盒)	100/500ml
FFN10	尼龙膜(带正电荷, 进口分装, 7.5×8.25cm, 0.45µm)	20张
FFN11	尼龙膜(带正电荷, 进口分装, 7.5×8.25cm, 0.45µm)	100张
FFN13	尼龙膜(带正电荷, 进口分装, 15×16.5cm, 0.45µm)	5张
FFN15	尼龙膜(带正电荷, 进口分装, 30cm×3.3m/卷, 0.45µm)	1卷
D3308	化学发光法生物素标记核酸检测试剂盒	1000cm <sup>2</sup>
D3308B	封闭液(D3308专用)	380ml
D3308W	洗涤液(5X, D3308专用)	250ml
FFP51	转印滤纸(7.5×10cm)	100张/包装
FFP56	转印吸水纸(7.5×9cm)	60cm
FS035	WB专用镊子(12cm, 翘方头)	1把/袋
ST876	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100/500ml

R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
ST004L	Agarose	50g
ST004B	40% Acr-Bis (19:1, Nuclease free)	100ml
R0123	RNase and DNase Away	250ml
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, DNA and RNA Away	250ml

Version 2023.12.17