天净沙系列

CAT#:240615

低温运输，-20℃保存

天净沙

DNA 探针标记试剂盒

（DOP-PCR 法，自备标记核苷酸）

DNA Probe Labeling Kit

使用手册 V1.0

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

DOP-PCR 标记的原理是用带标记的 dNTP 进行 DOP-PCR，最后得到的 DOP-PCR 产物将带有标记，可以直接用于杂交试验。本产品就是基于上述原理的基础上开发，它具有下列特点：

1. 一站式，本试剂盒提供经过优化的试剂，不需要用户自己摸索。
2. 一次标记可以得到 μg 级的双链 DNA 探针或约 700 ng 的单链 DNA 探针，足够多次杂交实验用。
3. 需自备含标记核苷酸的 dNTP。
4. 掺入率一般为 4-5%，有效降低了空间阻碍，检测效果最佳。
5. 标记探针可以用于 Southern 和 Northern Blot、原位杂交、菌落和斑点印迹杂交等分析。
6. 足够 10 次 50 μL 体系的 DOP-PCR 反应。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用 5 孔盒包装

名称	编号	规格	包装
标记专用 DOP-PCR Mix(含酶)	210701a	500 μL	0.5 mL 红盖管
DOP-PCR 引物 (20 pmol/μL)	Yw230700	50 μL	0.5 mL 本色管
dATP，10 mM each	220859	50 μL	0.5 mL 白盖管
dTTP，10 mM each	220862	50 μL	0.5 mL 绿盖管
dGTP，10 mM each	220860	50 μL	0.5 mL 黄盖管
dCTP，10 mM each	220861	50 μL	0.5 mL 本色管
使用手册	240615sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

DNA 模板。

使用方法

一：准备工作

1. 四种 10 mM 的 dNTP 是分开提供，用于制备 25 μL 非标记 dNTP（2 mM each，用于 DOP-PCR 阴性对照。四种 10 mM 的 dNTP 各加 5 μL，再加水 5 μL 即可）。
2. 25 μL 标记 dNTP（2 mM each，其中标记核苷酸和对应的非标记核苷酸的比例需要自行优化，假如是 biotin 或 DIG 标记的是 dUTP，则其对应的

非标记核苷酸是 dTTP，两者的最佳比例一般为 1：3；如果是 BrdUTP，则两者的最佳比例为 1:1。其配制方法是三种 10 mM 的 dNTP 各加 5 μL，再加标记核苷酸和其对应的标记核苷酸使其总的终浓度为 2 mM，再补水到 25 μL 即可）。

二：标记 DOP-PCR 反应

成份	样品	阴性对照
标记专用 DOP-PCR Mix	25 μL	25 μL
含标记核苷酸的 dNTP Mix（自备）	5 μL	不加
dNTP Mix，2 mM	不加	5 μL
DOP-PCR 引物	5 μL	5 μL
DNA 模板	10 ng	10 ng
超纯水	补到 50 μL	补到 50 μL

3. 放入 PCR 仪中按下列参数进行 DOP-PCR。

预变性	95℃	2 min
第一轮 PCR (5 个循环)	94℃	1 min
	30℃	1 min
	72℃（以每秒升 0.3℃的速度升到 72℃）	3 min
第二轮 PCR (35 个循环)	94℃	0.5 min
	56℃	0.5 min
	72℃	2 min
	4℃	Forever

4. 标记探针的定量：取标记反应液和对照反应液 1-5 μL，在琼脂糖凝胶上跟浓度已知的 DNA Marker 一起电泳，并判断探针的浓度。由于标记产物中额外带有生物素，地高辛等、其泳动速度将慢于非标记 DOP-PCR 产物（但同位素标记不能用此法）

关联产品	DNA 探针生物素标记试剂盒（PCR 法）