天净沙系列

CAT#:211239

低温运输，-20℃保存

天净沙

DNA 片段磷酸化试剂盒

DNA Fragment Phosphorylation 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

人工合成的 PCR 引物、linker 和 adaptor 的 5′端一般都是羟基基团而不是磷酸基团（除非额外付费要求在人工合成时加上磷酸基团），而任何 DNA 连接酶都不能将一个 DNA 分子 5′端的羟基基团和另一个 DNA 分子 3′端的羟基基团进行连接，因此通过人工合成的 DNA 片段和天然 DNA 之间的连接效率一般都比天然 DNA 彼此的连接效率低（天然 DNA 4 个端口均可连接，人工合成的 DNA 跟天然 DNA 有 2 个端口可以连接，人工合成的 DNA 之间没有任何端口可以连接），尤其是在平末端连接时。本公司开发的 DNA 磷酸化产品能将 DNA 分子 5′端的羟基基团磷酸化。它具有下列特点：

1. 可以快速把 DNA 5′端的羟基基团变成磷酸基团，使人工合成的 DNA（包括 PCR 产物）跟天然 DNA 一样有高的连接效率。
2. 既可以对单链 DNA 进行磷酸化处理，也可以对双链 DNA 片段同时磷酸化处理。
3. 处理后的 DNA 可以直接用于连接反应、克隆等，不需要纯化。
4. 本产品足够 20 次 DNA 的磷酸化实验。
5. 本试剂盒只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装材料
DNA 磷酸化 Mix	211239a	40 μL	0.5 mL 红盖管
ATP 溶液（10 mM）	210807	100 μL	0.5 mL 白盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	211239sc	1 份	1 份

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期为一年。

自备试剂

引物、PCR 产物、DNA 片段

使用方法

一：双链 DNA 片段的磷酸化

注意：如果是 PCR 产物，一定要先胶回收，不能使用没经过纯化的 PCR 反应液，因为其中残留的大量的 PCR 引物会耗掉大量的激酶，降低 PCR 产物的磷酸化效率。

1、在 1.5 mL 离心管中配制下列反应液（20 μL）：

成分	用量
PCR 胶回收片段	2 μL（不超过 10 pmol）
DNA 磷酸化 Mix	2 μL
ATP 溶液（10 mM）	5 μL
加超纯水到	20 μL

2、37℃反应 30 分钟。

3、70℃热处理 5 分钟灭活 T4 多核苷酸激酶。

4、可不经过纯化直接用于后续克隆，但加入量不要超过连接反应总体积的 1/5。

二：单链 DNA 片段的磷酸化

注：单链 DNA 包括局部双链的 DNA、引物，linker，adaptor，Oligo 探针等。

5、在 1.5 mL 离心管中配制下列反应液（20 μL）：

成分	用量
单链 DNA 片段	5-10 pmol
DNA 磷酸化 Mix	2 μL
ATP 溶液（10 mM）	1 μL
加超纯水到	20 μL

6、37℃反应 30 分钟。

7、70℃热处理 5 分钟灭活 T4 多核苷酸激酶。

8、可不经过纯化直接用于后续克隆，但加入量不要超过连接反应总体积的 1/5。如果需要提高磷酸化 DNA 的浓度，可用乙醇沉淀法浓缩 DNA（见附）。DNA 的浓度低于 5 pmol，在乙醇沉淀时还需要加入 DNA 助沉剂（需要另行购买）。沉淀得到的 DNA 可溶解在适量的水中以便得到所需的浓度。

附：乙醇沉淀浓缩 DNA(本试剂盒不提供相关试剂，下列操作流程仅供参考)：

1、在 DNA 溶液中加入 0.1 倍体积的 3 M 乙酸钠溶液（pH 5.2），100 μL DNA 溶液加 10 μL 乙酸钠溶液。

2、再加入 2.5 倍体积的无水乙醇。100 μL DNA 溶液加 250 μL 无水乙醇。

3、混匀后 12,000×g 常温离心 10 分钟，小心弃上清。

4、加入 1 mL 70%乙醇，短暂离心 3 分钟后小心弃上清。

5、短暂离心 5 秒，吸弃残留液体（约 30-50 μL）。

6、室温放置 2 分钟干燥后加入适量的超纯水溶解 DNA，立即使用或放-20℃长期保存。

关联产品	DNA 快速连接试剂盒