天净沙系列

CAT#:220419

低温运输，-20℃保存

天净沙

DNA 探针生物素标记试剂盒（TdT 加尾法）

DNA Probe Biotin Labeling Kit (TdT Tailing Method)

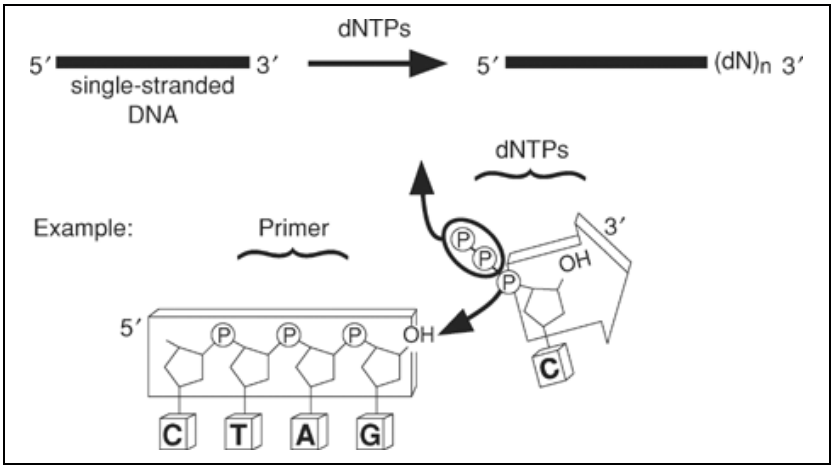
使用手册 V0.5

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

原理及特点

本产品是基于 TdT 末端转移酶能够在 DNA 的 3′端添加 dNTP 尾巴的原理而设计，该反应的示意图如下：



本产品是在上述原理的基础上开发的，具有下列特点：

1. 快速，15 分钟即可完成标记反应。
2. 不但可用于单链 DNA 和 DNA Oligo 标记，还可用于 3′突出的双链 DNA 标记，但后者标记效率稍低。
3. 可用同位素底物和非同位素底物（生物素和生物素标记的核苷酸等）。
4. 同时提供非标记的 dTTP，用户可以用其调节加尾长短和标记核苷酸掺入比例。
5. 标记的探针可用于电泳迁移率实验 (EMSA)、原位杂交 (ISH)、Northern Blot（不推荐用于低丰度 RNA 检测）、小 RNA Northern、Southern Blot（不推荐用于单拷贝基因检测）、菌落杂交、斑点印迹杂交分析等。
6. 本产品仅用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装
TdT 缓冲液，5×	220419a	20 μL	0.5 mL 绿盖管
TdT 末端转移酶 (10 U/μL)	220419b	10 μL	0.5 mL 红盖管
dTTP，2 mM	220419c	5 μL	0.5 mL 黄盖管
Biotin-11-dUTP	220165	5 μL	0.5 mL 本色管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	220419sc	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

1. 在 0.2 mL 微量离心管中按下表设置一个 20 μL 体系的标记反应(如果需要标记更多探针，请增加标记体积而不要增加探针 DNA 的浓度）：

成份	用量
自备 DNA 模板	100-200 pmol
TdT Buffer，5×	4 μL
Biotin-11-dUTP	1 μL
dTTP，2 mM	1 μL 或不加
TdT 末端转移酶（10 U/μL）	2 μL
超纯水	补到 20 μL
注: dTTP 可以不加，这样得到的加尾全部是标记核苷酸，但由于 biotin 的空间阻碍，这种探针的灵敏度并不是最佳。如果在加尾反应时掺入一定比例的 dTTP，控制标记核苷酸的密度不至于太高，这样反而可以提高探针的比活。标记核苷酸和非标记的 dTTP 的具体比例为多少，可以自己优化。一般可以选择 1:2。	

2. 37℃反应 30 分钟。如果没有非标记核苷酸存在，一般只能加尾 3-5 个标记的核苷酸（因为标记基团通过空间阻碍抑制延长反应）；如果在加尾反应中加入一定比例的非标记核苷酸 dTTP（其他 dNTP 也可，只是本试剂盒只提供 dTTP 而已），每条探针上可加上约 100 个核苷酸，平均含 5 个标记核苷酸。
3. 70℃ 10 分钟灭活 TdT 酶。
4. 如果需要，可以 PAGE 电泳+银染（相关试剂需要另购）检测标记效率，带标记的 DNA 探针的泳动速度将低于没标记的 DNA 分子。
5. 如果是非同位素标记，探针不需纯化可以直接用于杂交。如果需要纯化非同位素标记的探针，请不要酚/氯仿抽提，因为非同位素标记物一般会使探针 DNA 进入有机相而丢失。
6. 使用时需将探针以 1-8 ng/μL 的终浓度加入到杂交液中（如果探针是双链 DNA，加入前还需热变性）。如果不立即使用，非同位素标记的探针 DNA 可-20℃长期放置一年，同位素标记的探针 DNA 不能放置。

关联产品

随机引物法 DNA 探针标记试剂盒

20220816dx-ztl-wjw