天净沙系列

CAT#:230509

低温运输，-20℃保存

天净沙

# 人 Cot-1 DNA 溶液，1 μg/μL

# Human Cot-1 DNA Solution, 1 μg/μL

## 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

本产品是通过从人类胎盘 DNA 中提取、剪切、变性和复性 DNA，并在富集如 *Alu I* 和 *Kpn I* 家族等重复 DNA 序列的条件下获得的

1. 进行原位杂交时，人 Cot - 1 DNA 可用于抑制与人类重复 DNA 交叉杂交
2. 它也可以用于滤膜杂交实验中抑制人类重复 DNA 序列的交叉杂交。
3. 此外，它本身可以被标记，以提供一个有效的杂交探针来检查是否存在人类 DNA（例如，检查来自人类杂交文库的 cosmid 或 YACs）。
4. 可以通过分光光度法、荧光法及琼脂糖凝胶电泳验证纯度、大小和浓度。
5. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品使用塑料袋包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 人 Cot-1 DNA 溶液，1 μg/μL | 230509 | 100 μL | 0.5 mL 本色管 |
| 使用手册 | 230509sc | 1 份 | 无 |

储存缓冲液：10 mM Tris-HCl（pH 7.4）、1 mM EDTA

## 运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

## 自备物品

醋酸钠，乙醇，70%乙醇，TE 缓冲液，1%（w/v）SDS，20× SSC，10%硫酸葡聚糖

## 使用方法

**一、标记人 Cot-1 DNA**

1. 探针可以通过随机引物或缺口平移法使用随机引物 DNA 标记系统或缺口平移系统用 32P 标记。生物素标记的 Cot-1 DNA 可以通过缺口平移法使用 BioNick 标记系统或 BioPrime DNA 标记系统制备。当 Cot-1 DNA 首先自身连接以提供最佳模板时，可以获得更好结果。

**二、用 Cot-1 DNA 抑制的探针制备**

2. 为有效抑制重复 DNA 序列杂交所需的最佳 Cot-1 DNA 量将取决于具体应用、探针 DNA 的类型和数量。对于某些探针，可能需要在不断增加的 Cot-1 DNA 量中对探针进行滴定，或延长预杂交时间，以实现最佳抑制效果。

**三、原位杂交：**本产品的用量范围为 0.1 μg/μL 至 1.0 μg/μL。建议最初使用 0.1 μg/μL 进行实验。

3. 将标记的探针 DNA 与 Cot-1 DNA 混合。加入 1/10 体积的 3 M 醋酸钠（pH 5.5）和 2 体积的乙醇。将管子放置在-70℃下 30 分钟或-20℃过夜。离心管子，去除乙醇，用 70%乙醇洗涤，然后干燥沉淀。或者，人 Cot-1 DNA 可以通过乙醇沉淀单独浓缩至 10 mg /mL，并可直接加入杂交液中。

| | |
|---|---|
| | 4. 将 DNA 溶解在 50%甲酰胺、2×SSC 和 10%硫酸葡聚糖中，并充分涡旋。<br>5. 通过在 70℃加热 5 分钟使探针/Cot-1 DNA 混合物变性。<br>6. 在 37℃下孵育探针/Cot-1 DNA 混合物 20 分钟。<br>7. 通过将玻片在 70℃的 70%甲酰胺和 2×SSC 中孵育 2 分钟使中期染色体变性。<br>8. 加入探针/Cot-1 DNA 混合物，盖上盖玻片，用橡胶胶水密封，并在适当的温度(通常为 37℃，但可能需要针对使用的特定探针进行优化)下进行杂交。<br>9. 使用适当的检测方法(荧光、酶或放射性检测)对玻片进行洗涤和处理。<br>**四、滤膜杂交**<br>10. 在探针（plasmid, lambda, cosmid, YAC）DNA 被标记后，将反应产物通过 1 mL 的 Sephadex G-50 柱床，以 1500×g 离心 2 分钟，以去除未掺入的核苷酸。使用 TE 缓冲液(10 mM Tris-HCl（pH 7.4）1 mM EDTA)调整最终探针体积至 100 µL。<br>11. 通过乙醇沉淀将 Cot-1 DNA（供应浓度为 1 µg/µL）浓缩至 10 µg/µL。取出所需量的 Cot-1 DNA，加入 1/10 体积的 3 M 醋酸钠（pH 5.5）和 2 体积的乙醇，在干冰/乙醇浴中混合并冷却 10 分钟，然后离心。干燥沉淀并重新悬浮在 TE 缓冲液中至原始体积的 1/10（以使人 Cot-1 DNA 最终浓度为 10 µg/µL）。<br>12. 向标记的探针（100 µL 中含 25 至 500 ng DNA）中加入 5 µL 浓缩的未标记 Cot-1 DNA（50 µg）、50 µL 的 20× SSC、25 µL 的超纯水和 20 µL 的 1%（w/v）SDS，混合均匀。<br>13. 将探针/Cot - 1 DNA 混合物放入沸水中 5 分钟进行变性。<br>14. 将管子转移到 65℃的水浴中，并至少孵育 20 分钟。<br>15. 将探针/Cot-1 DNA 混合物添加到滤膜上。<br>16. 本产品生产过程中所使用的人类来源原材料经检测，对乙肝病毒、丙肝病毒（HCV）、人类免疫缺陷病毒 1 型（HIV - 1）和 2 型（HIV - 2）、人类 T 细胞白血病病毒（HTLV-1 和 HTLV-2）以及梅毒螺旋体均呈阴性反应。但操作时仍应视作具有潜在传染性。 |
| **关联产品** | 小鼠 Cot-1 DNA 溶液，1 µg/µL |