天净沙系列

CAT#:220419-5

低温运输，-20℃保存

天净沙

TdT 加尾法 DNA 探针标记试剂盒 自备标记底物

TdT Tailing DNA Probe Labeling Kit Labeling Substrate not Included

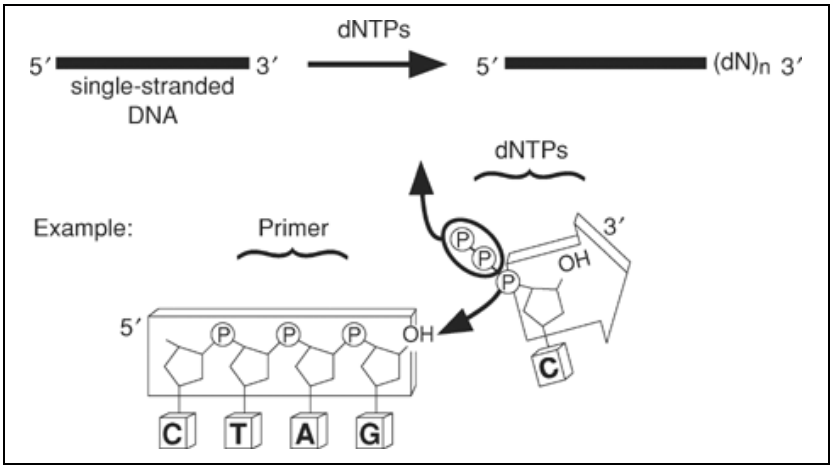
使用手册 V1.0

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

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。
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. 本产品足够 50 次 20 μL 体系反应。
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×	220746b	20 μL	0.5 mL 绿盖管
TdT 末端转移酶	220746	10 μL	0.5 mL 红盖管
dTTP，2 mM	220419c	5 μL	0.5 mL 黄盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	220419-5sc	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、带标记的 dUTP

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
带标记的 dUTP	1 μL
dTTP，2 mM	1 μL 或不加
TdT 末端转移酶（14 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，但如果使用生物素标记的 dUTP，由于生物素的空间阻碍，这种探针的灵敏度并不是最佳。所以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（因为标记基团如生物素会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