

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#: 120653A-5

CAT#: 120653B-5

CAT#: 120653C-5

低温运输, -20℃保存

**TIANDZ**

填入法 DNA 末端标记试剂盒

Fill-in DNA End Labeling Kit

使用手册 V1.0

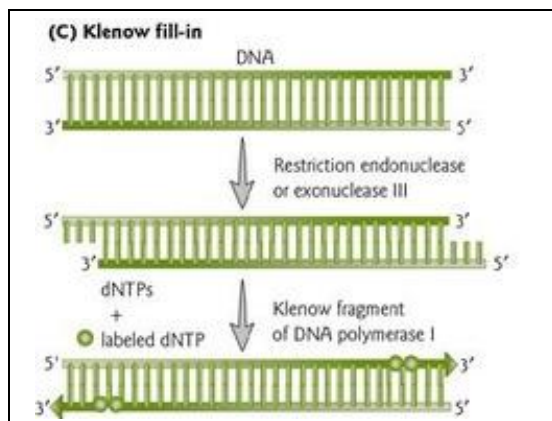
北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

## 原理及特点

本产品是基于 DNA 聚合酶能够在 DNA 粘性末端的 3' 凹端掺入 dNTP 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. 可用于任何 3' 凹端的 DNA 片段。
3. 可用同位素底物和非同位素底物（生物素和地高辛标记的核苷酸等）。
4. 提供不带标记核苷酸、带生物素标记核苷酸和带地高辛标记核苷酸三种选择。
5. 同时提供非标记的 dNTP，用户可以根据粘性末端序列使用。
6. 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。
7. 本产品足够 5 次 20uL 体系的标记反应。
8. 本产品仅供科研使用。

## 规格及成分

成份	编号	十孔盒包装
Klenow DNA 聚合酶	131235a	10 uL (红盖)
10×Klenow DNA 聚合酶缓冲液	131235b	10 uL (白盖)
dATP 溶液, 2.5mM	130912	10 uL (黄盖)
dTTP 溶液, 2.5mM	130913	10 uL (绿盖)
dGTP 溶液, 2.5mM	130914	10 uL (蓝盖)
dCTP 溶液, 2.5mM	130915	10 uL (紫盖)
Biotin-11-dUTP 溶液	120653b	10uL(本色盖仅 B 型)
DIG-11-dUTP 溶液	120653c	10uL(本色盖仅 C 型)
超纯水	100935	1 mL (蓝盖)

	使用手册	120653sc	1 份														
<b>运输及保存</b>	低温运输，-20℃保存，有效期一年																
<b>自备试剂</b>	DNA 模板																
<b>使用方法</b>	<p>1. 在 0.2 mL 微量离心管中按下表设置一个 20uL 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)：</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>用量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>待标记 DNA (3' 凹陷)</td> <td>100-200 pmol</td> </tr> <tr> <td>Klenow DNA 聚合酶缓冲液，10×</td> <td>2 uL</td> </tr> <tr> <td>自备标记核苷酸 (A 型) 或 Biotin-11-dUTP 溶液 (B 型) 或 DIG-11-dUTP 溶液 (C 型)</td> <td>1 uL</td> </tr> <tr> <td>与标记核苷酸不相同的三种非标记核苷酸，2.5mM(对 B 型和 C 型，标记的是 dUTP，相当于 dTTP，因此应该加 dATP、dCTP 和 dGTP)</td> <td>各 1uL，共 3uL</td> </tr> <tr> <td>Klenow DNA 聚合酶</td> <td>1 uL</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>补到 20 uL</td> </tr> </tbody> </table> <p>2. 37℃反应 30 分钟。</p> <p>3. 70℃ 10 分钟灭活 Klenow DNA 聚合酶。</p> <p>4. 如果需要，可以用斑点杂交法检测标记效率 (本产品不含相关试剂)。</p> <p>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。</p> <p>6. 使用时需将探针以 1-8 ng/uL 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。</p>			成份	用量	待标记 DNA (3' 凹陷)	100-200 pmol	Klenow DNA 聚合酶缓冲液，10×	2 uL	自备标记核苷酸 (A 型) 或 Biotin-11-dUTP 溶液 (B 型) 或 DIG-11-dUTP 溶液 (C 型)	1 uL	与标记核苷酸不相同的三种非标记核苷酸，2.5mM(对 B 型和 C 型，标记的是 dUTP，相当于 dTTP，因此应该加 dATP、dCTP 和 dGTP)	各 1uL，共 3uL	Klenow DNA 聚合酶	1 uL	超纯水	补到 20 uL
成份	用量																
待标记 DNA (3' 凹陷)	100-200 pmol																
Klenow DNA 聚合酶缓冲液，10×	2 uL																
自备标记核苷酸 (A 型) 或 Biotin-11-dUTP 溶液 (B 型) 或 DIG-11-dUTP 溶液 (C 型)	1 uL																
与标记核苷酸不相同的三种非标记核苷酸，2.5mM(对 B 型和 C 型，标记的是 dUTP，相当于 dTTP，因此应该加 dATP、dCTP 和 dGTP)	各 1uL，共 3uL																
Klenow DNA 聚合酶	1 uL																
超纯水	补到 20 uL																
<b>关联产品</b>	随机引物法 DNA 探针标记试剂盒 (CAT#:90603)																