

天
净
沙
系
列

CAT#: 90605A-5
CAT#: 90605B-5
CAT#: 90605C-5
低温运输, -20°C保存

TIANDZ

TdT 加尾法 DNA 探针标记试剂盒

TdT-Tailing DNA Probe Labeling Kit

使用手册 V1.1

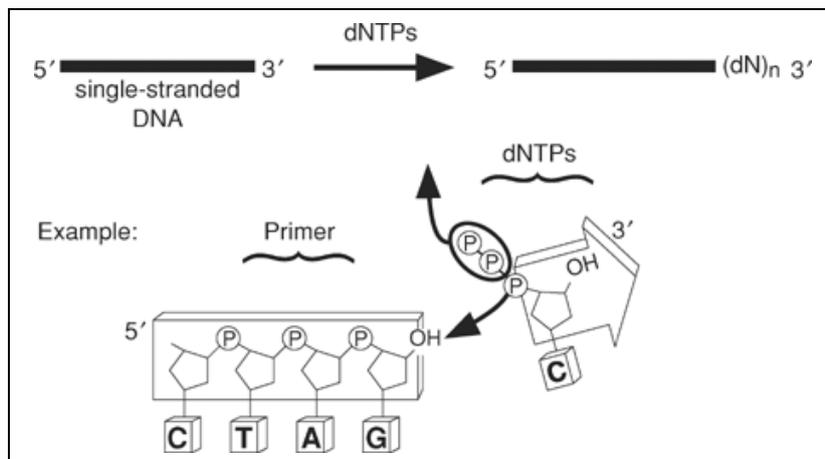
北京天恩泽基因科技有限公司

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; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

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 dATP，用户可以用其调节加尾长短和标记核苷酸掺入比例。
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。

规格及成分

成份	编号	十孔盒包装
TdT 缓冲液，5×	90605a	20 uL
TdT 末端转移酶 (10 U/uL)	90605b	10 uL
dATP，2 mM	90605c	5 uL
标记核苷酸	见注	(A、B、C 不同，见注)
超纯水	100935	1 mL
使用手册	90605sc	1 份

注：A 型用于自选标记，用户需自备标记核苷酸，本产品不提供标记核苷酸；B 型提供 5 uL Biotin-11-dUTP (CAT#: 100920)；C 型提供含 5

	uL DIG-11-dUTP (CAT#: 100921)。														
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	<p>1. 在 0.2 mL 微量离心管中按下表设置一个 20 uL 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" data-bbox="651 562 1326 1025"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>用量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>探针 DNA</td> <td>100-200 pmol</td> </tr> <tr> <td>TdT Buffer, 5×</td> <td>4 uL</td> </tr> <tr> <td>标记核苷酸, 1 mM (A 型需自备标记核苷酸)</td> <td>1 uL</td> </tr> <tr> <td>dATP, 2 mM</td> <td>(见下注)</td> </tr> <tr> <td>TdT 末端转移酶 (10 U/uL)</td> <td>2 uL</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>补到 20 uL</td> </tr> </tbody> </table> <p>注: dATP 可以不加, 但这样得到的加尾全部是标记核苷酸, 由于 DIG 或 biotin 的空间阻碍, 这种探针的灵敏度不一定最佳。如果不掺入 dATP 的探针杂交效果不好, 在加尾反应时最好掺入一定比例的 dATP 到标记核苷酸中, 以控制标记核苷酸的密度不至于太高, 这样可以提高比活。标记核苷酸和非标记的 dATP 的具体比例为多少, 可以自己优化。</p> <p>2. 37℃ 反应 15 分钟, 延长到 30 分钟也可以。如果没有非标记核苷酸存在, 一般可以加尾 3-5 个 Biotin 或 DIG 标记的核苷酸 (标记物空间阻碍抑制延长); 如果有在加尾反应中加入一定比例的非标记核苷酸 dATP (其他 dNTP 也可, 只是本试剂盒只提供 dATP 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</p> <p>3. 70℃ 10 分钟灭活 TdT 酶。</p> <p>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, 带标记的探针泳动速度将低于没标记的探针。</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>	成份	用量	探针 DNA	100-200 pmol	TdT Buffer, 5×	4 uL	标记核苷酸, 1 mM (A 型需自备标记核苷酸)	1 uL	dATP, 2 mM	(见下注)	TdT 末端转移酶 (10 U/uL)	2 uL	超纯水	补到 20 uL
成份	用量														
探针 DNA	100-200 pmol														
TdT Buffer, 5×	4 uL														
标记核苷酸, 1 mM (A 型需自备标记核苷酸)	1 uL														
dATP, 2 mM	(见下注)														
TdT 末端转移酶 (10 U/uL)	2 uL														
超纯水	补到 20 uL														

	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。
关联产品	随机引物法 DNA 探针标记试剂盒 (CAT#:90603)