

天
净
沙
系
列

CAT#:211239-20
低温运输, -20℃保存

BINGENE

DNA 片段磷酸化试剂盒

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	人工合成的 PCR 引物、linker 和 adaptor 的 5′ 端一般都是-OH 基团而不是-PO4 基团（除非额外付费要求在人工合成时加上-PO4 基团），而任何 DNA 连接酶都不能将一个 DNA 分子 5′ 端的-OH 基团和另一个 DNA 分子 3′ 端的-OH 基团进行连接，因此通过人工合成的 DNA 片段和天然 DNA 之间的连接效率一般都比天然 DNA 彼此的连接效率低（天然 DNA 4 个端口均可连接，人工合成的 DNA 跟天然 DNA 有 2 个端口可以连接,人工合成的 DNA 之间没有任何端口可以连接），尤其是在平末端连接时。本公司开发的 DNA 磷酸化产品能将 DNA 分子 5′ 端的-OH 基团磷酸化。它具有下列特点： 1. 可以快速把 DNA 5′ 端的-OH 基团变成-PO4 基团，使人工合成的 DNA（包括 PCR 产物）跟天然 DNA 一样有高的连接效率。 2. 既可以对单链 DNA 进行磷酸化处理，也可以对双链 DNA 片段同时磷酸化处理。 3. 处理后的 DNA 可以直接用于连接反应、克隆等，不需要纯化。 4. 本产品足够 20 次 DNA 的磷酸化实验。 5. 本试剂盒只能用于科研。																							
规格及成分	<table><tr><th>成份</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装材料</th></tr><tr><td>DNA 磷酸化 Mix</td><td>211239a</td><td>40 μL</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr><tr><td>ATP 溶液（10 mM）</td><td>210807</td><td>100 μL</td><td>0.5mL 白盖管</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>210806</td><td>1 mL</td><td>1.5mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>211239sc</td><td>1 份</td><td></td></tr></table>				成份	编号	规格	包装材料	DNA 磷酸化 Mix	211239a	40 μL	0.5mL 红盖管	ATP 溶液（10 mM）	210807	100 μL	0.5mL 白盖管	超纯水	210806	1 mL	1.5mL 蓝盖管	使用手册	211239sc	1 份	
成份	编号	规格	包装材料																					
DNA 磷酸化 Mix	211239a	40 μL	0.5mL 红盖管																					
ATP 溶液（10 mM）	210807	100 μL	0.5mL 白盖管																					
超纯水	210806	1 mL	1.5mL 蓝盖管																					
使用手册	211239sc	1 份																						
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期为一年。																							
自备试剂	引物、PCR 产物、DNA 片段																							
使用方法	一：双链 DNA 片段的磷酸化 注意：如果是 PCR 产物，一定要先胶回收，不能使用没经过纯化的 PCR 反应液，因为其中残留的大量的 PCR 引物会耗掉大量的激酶,降低 PCR 产物的磷酸化效率。 1、在 1.5mL 离心管中配制下列反应液（20μL）： <table><tr><th>成 分</th><th>用 量</th></tr><tr><td>PCR 胶回收片段</td><td>2 μL（不超过 10 pmol）</td></tr><tr><td>DNA 磷酸化 Mix</td><td>2 μL</td></tr><tr><td>ATP 溶液（10 mM）</td><td>5 μL</td></tr><tr><td>加超纯水到</td><td>20 μL</td></tr></table>				成 分	用 量	PCR 胶回收片段	2 μL（不超过 10 pmol）	DNA 磷酸化 Mix	2 μL	ATP 溶液（10 mM）	5 μL	加超纯水到	20 μL										
成 分	用 量																							
PCR 胶回收片段	2 μL（不超过 10 pmol）																							
DNA 磷酸化 Mix	2 μL																							
ATP 溶液（10 mM）	5 μL																							
加超纯水到	20 μL																							

	2、37℃反应 30 分钟。 3、70℃热处理 5 分钟灭活 T4 多核苷酸激酶。 4、可不经纯化直接用于后续克隆，但加入量不要超过连接反应总体积的 1/5。 二：单链 DNA 片段的磷酸化 注：单链 DNA 包括局部双链的 DNA、引物，linker，adaptor，Oligo 探针等。 5、在 1.5mL 离心管中配制下列反应液（20μL）： <table data-bbox="609 577 1251 896"> <tr> <th>成 分</th><th>用 量</th></tr> <tr> <td>单链 DNA 片段</td><td>5-10 pmol</td></tr> <tr> <td>DNA 磷酸化 Mix</td><td>2 μL</td></tr> <tr> <td>ATP 溶液（10 mM）</td><td>1 μL</td></tr> <tr> <td>加超纯水到</td><td>20 μL</td></tr> </table> 6、37℃反应 30 分钟。 7、70℃热处理 5 分钟灭活 T4 多核苷酸激酶。 8、可不经纯化直接用于后续克隆，但加入量不要超过连接反应总体积的 1/5。 如果需要提高磷酸化 DNA 的浓度，可用乙醇沉淀法浓缩 DNA（见附）。DNA 的浓度低于 5pmol，在乙醇沉淀时还需要加入 DNA 助沉剂（需要另行购买）。沉淀得到的 DNA 可溶解在适量的水中以便得到所需的浓度。 附：乙醇沉淀浓缩 DNA(本试剂盒不提供相关试剂，下列操作流程仅供参考)： 1、在 DNA 溶液中加入 0.1 倍体积的 3 M 乙酸钠溶液（pH 5.2），100μL DNA 溶液加 10μL 乙酸钠溶液。 2、再加入 2.5 倍体积的无水乙醇。100μL DNA 溶液加 250μL 无水乙醇。 3、混匀后 12000g 常温离心 10 分钟，小心弃上清。 4、加入 1mL 70%乙醇，短暂离心 3 分钟后小心弃上清。 5、短暂离心 5 秒，吸弃残留液体（约 30-50μL）。 6、室温放置 2 分钟干燥后加入适量的超纯水溶解 DNA，立即使用或放-20℃长期保存。	成 分	用 量	单链 DNA 片段	5-10 pmol	DNA 磷酸化 Mix	2 μL	ATP 溶液（10 mM）	1 μL	加超纯水到	20 μL
成 分	用 量										
单链 DNA 片段	5-10 pmol										
DNA 磷酸化 Mix	2 μL										
ATP 溶液（10 mM）	1 μL										
加超纯水到	20 μL										
关联产品	DNA 快速连接试剂盒										