

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#: 990605-5  
低温运输, -20℃保存

**BINGENE**

DNA 探针地高辛标记试剂盒 (TdT 加尾法)

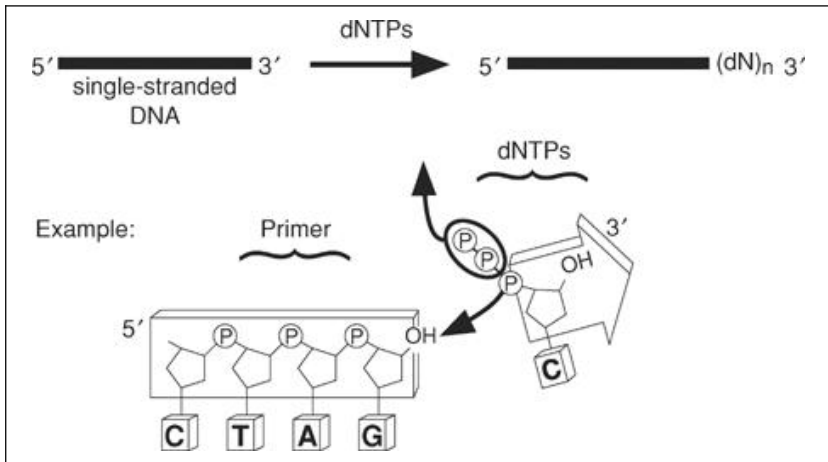
---

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](http://www.bingene.com); 电话: 400-6605850; 电邮: [order@bingene.com](mailto:order@bingene.com)

| <div>原理及特点</div>          | <div>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：</div> <div></div> <div>本产品是在上述原理的基础上开发的，具有下列特点：</div> <div><div>1. 快速，15 分钟即可完成标记反应。</div><div>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。</div><div>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）。</div><div>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。</div><div>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。</div><div>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。</div></div> |       |           |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----------|----|------|------------|---------|-------|-----------|---------------------|---------|-------|-----------|-----------|---------|------|-----------|---------------------------|--------|------|-----------|-----|--------|------|-----------|------|----------|-----|---|
| <div>规格及成分</div>          | <div>本产品采用五孔盒包装</div> <table><tr><th>成份</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装材料</th></tr><tr><td>TdT 缓冲液，5×</td><td>990605a</td><td>20 uL</td><td>0.5mL 绿盖管</td></tr><tr><td>TdT 末端转移酶 (10 U/uL)</td><td>990605b</td><td>10 uL</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr><tr><td>dATP，2 mM</td><td>220314c</td><td>5 uL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>地高辛-11-dUTP (DIG-11-dUTP)</td><td>990605</td><td>5 uL</td><td>0.5mL 本色管</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>990605sc</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></table>                                                   | 成份    | 编号        | 规格 | 包装材料 | TdT 缓冲液，5× | 990605a | 20 uL | 0.5mL 绿盖管 | TdT 末端转移酶 (10 U/uL) | 990605b | 10 uL | 0.5mL 红盖管 | dATP，2 mM | 220314c | 5 uL | 0.5mL 黄盖管 | 地高辛-11-dUTP (DIG-11-dUTP) | 990605 | 5 uL | 0.5mL 本色管 | 超纯水 | 210806 | 1 mL | 1.5mL 蓝盖管 | 使用手册 | 990605sc | 1 份 | 无 |
| 成份                        | 编号                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 规格    | 包装材料      |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
| TdT 缓冲液，5×                | 990605a                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 20 uL | 0.5mL 绿盖管 |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
| TdT 末端转移酶 (10 U/uL)       | 990605b                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 10 uL | 0.5mL 红盖管 |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
| dATP，2 mM                 | 220314c                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 5 uL  | 0.5mL 黄盖管 |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
| 地高辛-11-dUTP (DIG-11-dUTP) | 990605                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 5 uL  | 0.5mL 本色管 |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
| 超纯水                       | 210806                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 1 mL  | 1.5mL 蓝盖管 |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
| 使用手册                      | 990605sc                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1 份   | 无         |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |
| <div>运输及保存</div>          | <div>低温运输，-20℃保存，有效期一年</div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |       |           |    |      |            |         |       |           |                     |         |       |           |           |         |      |           |                           |        |      |           |     |        |      |           |      |          |     |   |

| 自备试剂                | DNA 模板                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|-----------|--------------|----------------|------|-------------|------|------------|---------|---------------------|------|-----|----------|
| 使用方法                | <div>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）：</div> <table><tr><th>成份</th><th>用量</th></tr><tr><td>自备 DNA 模板</td><td>100-200 pmol</td></tr><tr><td>TdT Buffer, 5×</td><td>4 uL</td></tr><tr><td>DIG-11-dUTP</td><td>1 uL</td></tr><tr><td>dATP, 2 mM</td><td>1uL 或不加</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></table> <div>注: dATP 可以不加, 这样得到的加尾全部是标记核苷酸, 但由于 DIG 或 biotin 的空间阻碍, 这种探针的灵敏度并不是最佳。如果在加尾反应时掺入一定比例的 dATP, 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 dATP 的具体比例为多少, 可以自己优化。一般可以选择 1: 2。</div> <div>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 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。</div> <div>3. 70℃ 10 分钟灭活 TdT 酶。</div> <div>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。</div> <div>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。</div> <div>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</div> | 成份 | 用量 | 自备 DNA 模板 | 100-200 pmol | TdT Buffer, 5× | 4 uL | DIG-11-dUTP | 1 uL | dATP, 2 mM | 1uL 或不加 | TdT 末端转移酶 (10 U/uL) | 2 uL | 超纯水 | 补到 20 uL |
| 成份                  | 用量                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |
| 自备 DNA 模板           | 100-200 pmol                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |
| TdT Buffer, 5×      | 4 uL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |
| DIG-11-dUTP         | 1 uL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |
| dATP, 2 mM          | 1uL 或不加                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |
| TdT 末端转移酶 (10 U/uL) | 2 uL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |
| 超纯水                 | 补到 20 uL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |    |           |              |                |      |             |      |            |         |                     |      |     |          |

|             |                                |
|-------------|--------------------------------|
|             | 可-20℃长期放置一年，同位素标记的探针 DNA 不能放置。 |
| <b>关联产品</b> | 随机引物法 DNA 探针标记试剂盒              |