

天
净
沙
系
列

CAT#:220990-50
低温运输, -20℃保存

BINGENE

DNA 片段加 T 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: 400-6605850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	某些 DNA 聚合酶具有不依赖于模板的末端转移酶活性，在只有 dTTP 存在的情况下，可以在平末端的 DNA 片段的两个 3' 端各加上一个 dT 尾巴。本产品就是利用此原理开放的加 T 试剂盒，主要用于制备 T 载体或在平末端的 DNA 片段上加上 1 个 T 尾巴。本产品具有下列特点： 1. 简单, 2X 加 T 预混合液中含有所需要的所有成分（包括酶）），不需要单独准备。 2. 各成分最佳用量经过优化，用户不需要单独调试。 3. 适用于任何平末端的 DNA 片段，包括 Pfu DNA 聚合酶等高保真 DNA 聚合酶合成的 DNA 片段或限制性内切酶酶切回收得到的 DNA 片段。 4. 加 T 后的载体可以作为 T 载体使用。			
规格及成分	本产品使用塑料袋包装			
	成份	编号	规格	包装材料
	2X 加 T 预混液	220990	1.25 mL	2.0mL 本色管
	使用手册	220990sc	1 份	无
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。			
自备试剂	平末端 DNA 片段、平末端质粒 DNA、自备超纯水。			
使用方法	一：反应前纯化处理： 1. 平末端 DNA 片段或平末端质粒 DNA 可以采取胶回收和酚/氯仿抽提法等常规方法纯化，最后溶解在水或 TE 中，终浓度以 0.1 ug/uL 为宜。必须注意的是，用 Vent, Deep Vent, Pfu, Pwo 等具有 3 到 5 外切活性的 DNA 聚合酶扩增得到的 DNA 片段，必须经过彻底的去除残留的酶的处理过程（如酚/氯仿抽提或 Proteinase K 处理），否则它们将在加 T 反应时，将切除掉加上的 T 尾巴，干扰反应。 2. 本产品的加尾酶在 DNA 的 3' 末端的核苷酸为 T 时，加 T 效率更高，故如果有可能，最好满足此要求。 二：加 T 反应 3. 在干净的 0.5 mL 或 1.5 mL 离心管中，分别加入回收的 DNA 片段(0.2-2 ug)、25 uL 2 X 加 T 缓冲液、最后补水到 50 uL，在 PCR 仪上 72℃保温 2 小时。如果用金属浴或水浴，必须加 50uL 石蜡油，否则水分在反应过程中将蒸发，影响加尾效率。 4. 加 T 反应后，加尾酶将与 DNA 末端紧密结合，所以必须酚/氯仿抽提去除。如果使用 Proteinase K 处理后再用酚/氯仿抽提效果会更好。得到的 DNA			

	溶于适量水和 TE 中后即可用于后续连接反应。由于加一个 T 不会改变 DNA 片段的琼脂糖电泳速度，故不能通过跑电泳检测加尾效果。
关联产品	DNA 片段加 A 试剂盒、一站式 T 载体制备套装

20220927dx