



随机引物法 DNA 探针地高辛标记试剂盒

货号: JLC_Y7453

使

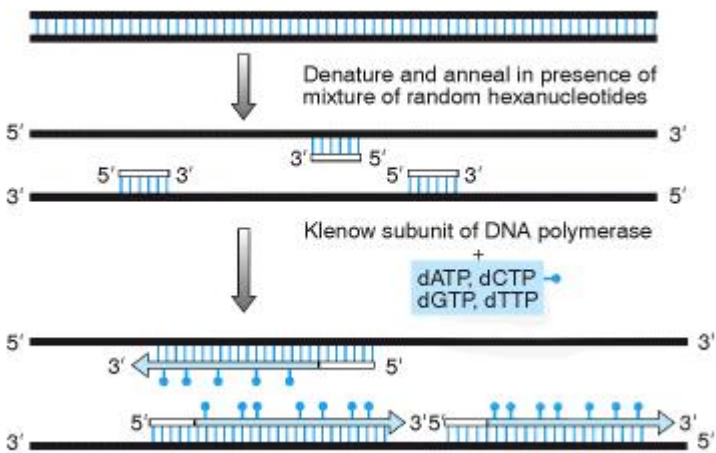
用

说

明

书

本产品是基于 Feinberg 和 Vogelstein 发明的随机引物标记法而开发出来的即用型 DNA 探针标记试剂盒，标记过程由双链 DNA 热变性、随机引物与单链 DNA 结合、在 Klenow DNA 聚合酶催化下，引物的延伸合成 DNA 探针并掺入标记的核苷酸三步组成，可用下面的示意图表示：



产品及特点

本产品对 Feinberg 和 Vogelstein 经典方法进行了改良，**它具有下列特点：**

- 1. 提供的标记反应液整合了除酶和模板外的所有成分，简化了反应加样步骤，提高了标记反应的可重复性。
- 2. 使用无外切活性的 Klenow exo- DNA 聚合酶，已标记 DNA 探针不会被酶降解，探针产量更高。
- 3. 快速，1 小时即可完成标记反应。
- 4. 所需模版 DNA 量少，模板可以是线状或环状的、也可以是单链或双链的，但长度必须在 100 bp 以上。
- 5. 得到的探针长度一般在 200-400 nt 之间（如果模板长度在 1kb 以上），可以用于 Southern 杂交、Northern 杂交、原位杂交、菌落和斑点印迹杂交等。
- 6. 本产品足够 5 次 DNA 探针地高辛标记实验。
- 7. 本产品只能用于科研。

规格及成分	成分	规格	包装
	5×随机引物地高辛标记反应液	20 uL	0.5mL 绿盖管
	随机引物(6 碱基，无修饰)干粉	5 次	0.5mL 本色管
	Klenow exo-聚合酶，5U/uL	5 mL	0.5mL 红盖管
	超纯水	1 mL	1.5mL 蓝色管
	使用手册	1 份	无
	本产品采购五孔盒包装		
使用方法	1. 首次使用本产品时，需要在随机引物干粉管子中加入 25uL 超纯水，涡旋震荡 30 秒，短暂离心 10 秒。得随机引物溶液，放冰上待用。		
	2. 在一干净的塑料离心管中加入下列成分：		
	成分	用量	
	模板 DNA	50-150 ng	
	(PCR 回收片段,长度 100-1000bp)		
	5×随机引物地高辛标记反应液	4 uL	
	随机引物溶液	4 uL	
	超纯水	补水到 19uL	
	注 意： 模板 DNA 并非越多越好，因为模板 DNA 没有标记，新合成的 DNA 才带有标记，因此模板 DNA 越多，在杂交反应时这些没有标记的 DNA 对标记 DNA 的竞争性抑制就越强，降低杂交信号强度。		
	3. PCR 仪上 100℃加热 10 分钟使模板 DNA 彻底变性。		
	4. 立即放冰上待用。不能缓慢降温，否则变性的模板 DNA 单链又会杂交形成双链。		
	5. 离心数秒使所有液体集中在管底。		
	6. 加入 1 uL Klenow exo DNA 聚合酶，轻柔吹打混匀。此时反应总体积为 20uL。		
7. 37℃保温 1-20 小时。标记效率跟模板 DNA 和保温时间相关，模板越多，新合成探针多，但新合成探针/模板比例低，杂交信号低。模板越少，新合成探针少，但探针/模板比例高，杂交信号高。但探针少到一定程度，也不会有杂交反应发生。因此用户需要探针合成量和杂交信号强弱在这两者			

	之间进行折衷选择。具体可以参考下表：		
	模版 DNA 用量 (ng)	1 小时后探针合成量 /探针模板比	20 小时后探针合成量/探针模 板比
	10	80ng/8	900ng/90
	30	150ng/5	1350ng/45
	100	350ng/3.5	1650ng/16.5
	300	750ng/2.5	2200ng/7.3
	1000	1300ng/1.3	2600ng/2.6
	3000	1600ng/0.53	2600ng/0.87
	8. 反应结束后加热 100℃ 5 分钟使 DNA 聚合酶变性，同时使 DNA 探针变性成单链。变性后的标记反应液可以放-20℃长期保存，也可以直接将变性后的探针加入到杂交反应液中进行杂交。如果电泳检测，标记产物将是弥散状态。 注意：本方法标记核苷酸掺入率极高，因此可以不经纯化直接使用。如果需要纯化，不要用酚抽提法纯化非同位素标记的 DNA 探针，因为这些标记分子（如生物素或地高辛等）疏水性强，能使标记的 DNA 进入疏水的有机相而丢失。只能选择乙醇直接沉淀或 Sephadex G50 过柱回收（需另购柱式探针纯化试剂盒）。		
自备试剂	模板 DNA。		
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 1 年。		

生产企业: 上海机纯实业有限公司

公司地址: 上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603

公司电话: 021-54720761

技术支持: 13166274223