

M5 HiPer 末端脱氧核苷酸转移酶 (TdT) 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 末端脱氧核苷酸转移酶 (TdT)	500U	MF472-01

【储存条件】

-20℃保存，有效期 2 年。

【浓度】: 20u/ul

【产品简介】

末端转移酶 (Terminal transferase, TdT) 是一种无需模板的 DNA 聚合酶，催化脱氧核苷酸结合到 DNA 分子的 3' 羟基端。带有突出、凹陷或平滑末端的单双链 DNA 分子均可作为 TdT 的底物。一般操作是：先在载体上打开一单个位点，把它与末端转移酶和某一 dNTP (如 dATP) 一起保温以使添尾，另一待插入的外源 DNA 片段则用互补的用同法添 dNTP (dTTP) 用同法添尾。接着使上述两种都接上互补单链尾的 DNA 片段彼此退火，使形成一杂合载体来转化受体菌。杂合载体中的裂隙或切口可被受全菌所修复。

【来源】: 大肠杆菌细胞，含有编码牛胸腺末端脱氧核苷转移酶的基因

【活性定义】: 是指在 37℃、60 分钟内将 1nmol 脱氧核糖核酸掺入多聚核苷酸片段 (吸附在 DE-81 上) 所需的酶量

【酶活性分析混合物】: 66mM 二甲胍酸钾 (PH7.2), 1mM CoCL₂, 0.01%(v/v) Triton X-100, 10uM oligo(dT)₁₀, 1mM dTTP 和 0.4MBq/ml[3h]-dTTP

【保存液组分】: 100mM 醋酸钾 (PH6.8)、2mM β-巯基乙醇, 0.01%(v/v) Triton X-100 和 50%(v/v)甘油

5X 反应缓冲液: 1M 二甲胍酸钾、125mM Tris, 0.05%(v/v) Triton X-100, 5mM CoCL₂(PH7.2,25℃)

【抑制剂】: 金属螯合剂、铵、氯化物、碘化物和磷酸盐离子

【失活】: 加入 EDTA, 70℃加热 10 分钟

【质量保证】: 测试表明无内切和外切脱氧核糖核酸酶、核糖核酸酶、磷酸酶污染。

【操作方法】:

A Typical DNA Tailing Reaction Protocol

1. Mix:

- 10 μl 5X TdT Buffer
- 5.0 pmols DNA (330 ng for 100 bp, 1 μg for 300 bp, 10 pmols DNA ends)*
- 0.5 μl 10 mM dNTP (alpha-32P dATP may also be used)
- 0.5 μl Terminal Transferase (20 units/μl)
- Deionized H₂O to a final volume of 50 μl.

*To determine approximate amount of DNA (ng/pmol), multiply the number of base pairs by 0.66. Example: 300 bp x 0.66 = 198 ng/pmol. For 5.0 pmols multiply by 5, resulting in 990 ng/5 pmol.

The table below can be used as a guide (values are approximate and are given for a 30 minutes incubation at 37℃ in the recommended buffer).

The rate of addition of dNTP's and thus the length of the tail is a function of the ratio of 3' DNA ends: dNTP concentration, and also which dNTP is used.

DNA Tailing Guide:

pmols 3' ends pmols dNTP	Tail Length			
	dA	dC	dG	dT
1:100	1-5	1-3	1-3	1-5
1:1,000	10-20	10-20	5-10	10-20
1:5,000	100-300	50-200	10-25	200-300

2. Incubate at 37°C for 30 minutes.

3. Stop the reaction by heating to 70°C for 10 minutes or by adding 10 µl of 0.2 M EDTA (pH 8.0).

【注意】:

由于含有 CoCL₂, TdT 反应缓冲液不能与下游应用兼容,需采用柱离心法或苯酚/氯仿抽提及乙醇沉淀方法纯化反应混合物,除去 CoCL₂

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时,本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。