

末端脱氧核糖核酸转移酶 (TdT)

T751008

产品简介:

本公司生产的末端脱氧核糖核酸转移酶 (20U/μl)即 Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, 简称 TdT。是一种非模板依赖的 DNA 聚合酶, 可以催化在寡核苷酸、单链或双链 DNA 的 3'羟基端加上 dNTP。可以催化的寡核苷酸的最短长度为 3 个核苷酸。有报道 TdT 也可以在 RNA 的3'羟基端加上 NTP, 但对于 RNA 的催化活性要弱于 DNA。

来源 (Source)	大肠杆菌重组表达
外观 (Appearance)	无菌液体
保存液 (Storage Buffer)	100mM KAc (pH6.8), 2mM 2-mercaptoethanol, 0.01% (v/v) Triton X-100 and 50% (v/v) glycerol
酶浓度 (Enzyme Concentration)	20U/μL
纯度 (Purity)	不含 DNA 内切酶和外切酶, 不含 RNase
活性定义 (Activity Definition)	37°C 60 分钟内, 催化 1nmol dNTP 加入到多聚核苷酸 3'羟基末端中所需的酶量定义为 1 个活性单位

组分和说明:

T751008	Component	500U	5×500U	20×500U	Storage
T751008A	TdT (20U/μl)	25μl	5×25μl	20×25μl	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.
T751008B	Reaction Buffer (10X)	0.3ml	5×0.3ml	20×0.3ml	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.
T751008C	CoCl ₂	0.3ml	5×0.3ml	20×0.3ml	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.

储存温度:

-20°C 储存。

产品应用:

寡核苷酸或DNA 3'羟基末端标记; DNA 末端加尾(DNA tailing); 5'-RACE; 合成同一种脱氧核苷酸的寡聚链等。

产品优势:

可以催化 DNA 的 3' 末端添加同聚物, 能利用修饰碱基 (如 ddNTP、DIG-dUTP) 标记 DNA 3' 末端, 用于 TUNEL 检测 (细胞凋亡的原位检测), 和 TdT 依赖的 PCR。

使用说明:

1. DNA 3'末端标记:

a. 参考如下表格设置反应体系:

待标记 DNA	10 pmol of 3'-termini
---------	-----------------------

Reaction Buffer (10X)	5μl
[α-32P]-ddATP, ~ 10TBq/mmol (3000 Ci/mmol)	1.85 MBq (50μCi)
(2.5mM) CoCl ₂	5μl
TdT (5U/μl)	1-2μl
补充无核酸酶的去离子水	至 50μl

b. 按上表设置好反应体系后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体。

c. 37°C 孵育 20 分钟。

d. 70°C 孵育 20 分钟或加入 5μl 0.5M EDTA 终止反应。

说明: 标记的效率和 3'羟基末端的类型有关, 3'突出末端的标记效率要显著高于 3'缩进末端或平末端的标记效率。

2. DNA 末端加尾 (DNA Tailing):

a. 参考如下表格设置反应体系:

DNA 片段	1 pmol of 3'-termini
Reaction Buffer (10X)	4μl
CoCl ₂	4μl
dATP or dTTP	130pmol (20 μCi)
或 dGTP or dCTP (四种中 通常只需加入一种) (3000 Ci/mmol)	60pmol
TdT(5U/μl)	0.5-1.5μl
补充无核酸酶的去离子水	至 20μl

b. 按上表设置好反应体系后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体。

c. 37°C 孵育 15 分钟。

d. 70°C 孵育 15 分钟或加入 5μl 0.5M EDTA 终止反应。

说明: 在上述反应条件下, 每个 3'羟基末端可以加上 100-130 个 dA 或 dT, 或 20-30 个 dC 或 dG。

3. 其他用途可以参考上述用途或适当的文献资料进行。

注意事项:

(1) 酶使用时宜放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C 保存。

(2) 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

(3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。