



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

生物素随机引物DNA标记试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D3118	生物素随机引物DNA标记试剂盒	10次

产品简介:

- 生物素随机引物DNA标记试剂盒(Biotin Random Prime DNA Labeling Kit)是一种通过随机引物标记反应产生生物素标记DNA探针的试剂盒。本试剂盒标记的生物素DNA探针可以用于常规的Northern、Southern、colony或plaque hybridization、dot或slot blot、原位杂交等。
- 在Klenow酶(Klenow fragment, 3'-5' exo-)催化下, 通过随机引物标记反应(random prime labeling)可以把生物素标记的Biotin-11-dUTP掺入到新合成的DNA探针中, 这样就可以产生生物素标记的DNA探针。在随机引物标记反应过程中, 一些标记好的DNA探针可以被Klenow酶从模板DNA链上驱赶下来。这样在模板量较少的情况下, 通过随机引物标记反应, 最后可以产生比模板DNA量更多的生物素标记DNA探针, 可多达1-15倍左右。
- 本试剂盒可以用于多种DNA模板的标记, 包括DNA片段、线性化的质粒或cosmid、超螺旋DNA等。用于本试剂盒的模板DNA片段应不小于100bp, 小于100bp的DNA模板可以使用碧云天生产的生物素3'末端DNA标记试剂盒(D3106)进行DNA探针标记。
- 用于本试剂盒的模板DNA的量应不少于10ng, 推荐的模板用量为100ng-1 μ g。
- 本试剂盒中提供了已经用生物素标记好的Biotin-Control DNA, 可以用作检测生物素DNA探针标记效率的对照。
- 生物素标记DNA可以使用碧云天生产的化学发光法生物素标记核酸检测试剂盒(D3308)或其它适当试剂盒进行检测。
- 本试剂盒可以用于10个标记反应。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D3118-1	Random Primer in Buffer (5X)	105 μ l
D3118-2	Klenow Fragment	11 μ l
D3118-3	Biotin-Labeling Mix	50 μ l
D3118-4	Ultrapure Water	1ml
D3118-5	Biotin-Control DNA (3ng/ μ l)	50 μ l
D3118-6	探针标记终止液	100 μ l
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存。

注意事项:

- 需自备用于探针标记效率检测的相关试剂。
- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 在一离心管或PCR管内加入100ng-1 μ g DNA模板, 再加入适量试剂盒提供的Ultrapure Water, 至总体积为34 μ l。
说明: 通常100-300ng DNA模板已经足够用于一次标记反应。
2. 加入10 μ l Random Primer in Buffer (5X), 混匀。如有液滴沾在管壁上, 高速离心数秒使所有液体集中在管底。
3. 沸水浴加热5分钟, 或在PCR仪上100 $^{\circ}$ C加热5分钟(如果不能设置100 $^{\circ}$ C, 99 $^{\circ}$ C加热5分钟也完全可以)。
4. 立即放置到预先准备好的冰水浴中至少2-3分钟。
5. 加入5 μ l Biotin-Labeling Mix。
6. 加入1 μ l Klenow Fragment, 混匀。如有液滴沾在管壁上, 高速离心数秒使所有液体集中在管底。
7. 37 $^{\circ}$ C孵育1小时或过夜(不宜超过20小时)。37 $^{\circ}$ C孵育过夜可以显著增加生物素标记DNA的产量, 因此推荐孵育过夜(12-20)小时。
8. 加入3 μ l探针标记终止液, 混匀, 终止标记反应。至此标记反应已经全部完成, 标记好的DNA可以-20 $^{\circ}$ C保存。
9. 此时探针可以直接用于探针标记效率的检测及Southern、Northern等后续操作。

10. 整个探针标记反应的流程参见下表：

100ng-1 μ gDNA模板	x μ l
Ultrapure Water	(34-x) μ l
Random Primer in Buffer (5X)	10 μ l
100°C 5分钟，立即冰浴冷却	
Biotin-Labeling Mix	5 μ l
Klenow Fragment	1 μ l
总体积	50 μ l
37°C 孵育过夜	
探针标记终止液	3 μ l
-20°C 保存	
此时可用于标记效率的检测及Southern、Northern等后续检测	

11. 探针标记效率的检测：可以对标记好的探针进行适当梯度稀释后，使用碧云天生产的化学发光法生物素标记核酸检测试剂盒(D3308)或其它适当的方法进行检测。通常探针的标记效率可以参考下表：

模板DNA量	生物素标记DNA产量	
	孵育1小时	孵育20小时
—	80ng	900ng
10ng	80ng	900ng
30ng	150ng	1350ng
100ng	350ng	1650ng
300ng	750ng	2200ng
1000ng	1300ng	2600ng
3000ng	1600ng	2600ng

注意：具体的探针标记效率还和模板DNA的长度、纯度等因素有关，上表的数值仅供参考。

12. 使用本试剂盒所获得的生物素标记DNA的长度通常在数百bp左右。具体的长度因模板的长度而有所不同。例如模板DNA的长度为1kb，则生物素标记DNA产物的长度通常为100-1000bp，平均长度约为300bp左右。

使用本产品的文献：

1. Ma Z, Sun W. The effect of aerosol polyethylenimine/interferon- γ plasmid complexes on expression of inflammatory cytokines in mouse lung. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2014 Apr;27(2):117-24.
2. Shi L, Chen D, Xu C, Ren A, Yu H, Zhao M. Highly-efficient liposome-mediated transformation system for the basidiomycetous fungus *Flammulina velutipes*. *J Gen Appl Microbiol.* 2017 Jul 11;63(3):179-185.

Version 2021.09.01