

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		500 U	2500 U
Terminal Transferase (20,000 U/mL)	RM20535	25 μ L	125 μ L
10X Terminal Transferase Reaction Buffer	RM20805	1.5 mL	1.5 mL
2.5 mM CoCl ₂	RM20811	1.5 mL	1.5 mL

产品说明

Terminal Transferase 为末端脱氧核糖核酸转移酶，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。

该酶的主要用途为寡核苷酸或 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。

产品来源

Terminal Transferase 由大肠杆菌表达，表达基因的来源为小牛胸腺。

质量控制

SDS-PAGE 检测蛋白纯度大于 95%。

无核酸外切酶、内切酶和 RNA 酶活性。

PCR 检测无宿主基因组残留。

保存温度

-20°C

活性定义

在 37°C 下 1 h 内，总反应量为 50 μ L，将 1 nmol dNTP 掺入到酸不溶性物质中所需的 Terminal Transferase 量为 1 活性单位 (U)。

酶存储液

50 mM KPO₄, 100 mM NaCl, 1.43 mM β -ME, 50% Glycerol, 0.1% Triton® X-100, pH 7.3 @ 25°C

反应条件

10X Terminal Transferase Reaction Buffer: 200 mM Tris-Ac, PH=8.0, 500 mM KAC, 100 mM MgAC₂

热失活

70°C 加热 10 min

产品应用

DNA 的 3' 末端添加均聚物尾

寡脱氧核苷酸和 DNA 标记

5'-RACE (cDNA 末端快速扩增)

TUNEL assay 细胞凋亡的原位定位

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. 适量 EDTA 可使 Terminal Transferase 的活性丧失。
3. 金属离子螯合剂，较高浓度的铵根离子、氯离子、碘离子和磷酸根离子均对 Terminal Transferase 活性具有抑制作用。
4. Human gDNA 末端 mol 数的计算，长度为 100bp 的 DNA: 10 pmol 末端 DNA=330ng; 1 μ g for 300 bp。

操作说明**经典 DNA 3'末端标记:**

1. 按下表所示在冰上加入各反应组分 (以 50 μ L 反应体系为例)

试剂	50 μ L
10X Terminal Transferase Reaction Buffer*	5 μ L
2.5 mM CoCl ₂	5 μ L
25 mM dNTP**	0.4 μ L
Terminal Transferase ***	0.5 μ L
DNA (5.0 pmols)	2 μ L
ddH ₂ O	up to 50 μ L

注: *, 注: 10X Terminal Transferase Reaction Buffer 在融解时请待溶液恢复至室温, 震荡混匀后使用。

** , 注: 可选择进行 A/T/G/C 加尾反应。

*** , 注: Terminal Transferase 应最后加入反应体系中。

2. 各反应组分混匀并短暂离心收集溶液到管底。

3. 37 $^{\circ}$ C 孵育 30min;

4. 70 $^{\circ}$ C 孵育 20 分钟终止反应。