

# Terminal Deoxynucleotidyl Transferase

Code No. 2230A

包装量: 300 U  
浓度: 14 U/μl

## 附带试剂:

5X Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Buffer 1 ml  
0.1% BSA 1 ml

## 制品说明:

本酶催化dNTP聚合于单链或双链DNA的3'-OH末端的反应<sup>1)</sup>, 该反应不需要模板, 但引物必须是至少有3个以上碱基的寡核苷酸。

## 酶贮存溶液:

60 mM Potassium Phosphate, pH7.2  
150 mM KCl  
1 mM DTT  
50% Glycerol

保存: -20°C

## 起源:

*E. coli* carrying the plasmid which encodes the gene of terminal deoxynucleotidyl transferase

## 特性:

- 分子量: 60,000。
- 最适 pH: 7.2。
- 辅因子: 二价离子 Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> 或 Co<sup>2+</sup>。
- 底物特异性: 核酸类似物 (如 5-甲基-dCTP, 6-O-甲基-dGTP 等) 可作为底物。  
三磷酸双脱氧胸腺嘧啶和三磷酸虫草菌素为终止物。

## 活性定义:

以 DNase 处理后的热变性小牛胸腺 DNA 为起始物, 在 37°C、pH7.2 的条件下, 1 小时内使 1 nmol 的 [<sup>3</sup>H]dTTP 掺入酸不溶性沉淀物所需的酶量定义为 1 个活性单位 (unit)。

## 活性定义反应液:

100 mM Sodium cacodylate, pH7.2  
8 mM MgCl<sub>2</sub>  
0.1 mM DTT  
0.024% bovine serum albumin  
160 μg/ml activated calf thymus DNA  
0.5 mM [<sup>3</sup>H]dTTP

## 质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站上下载:

[https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc\\_index.php](https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php)。

## 用途:

- 通过 Okayama-Berg 法<sup>3)</sup>给载体或 cDNA 加上互补同聚尾。
- 使用 dNTP、ddNTP 来标记 DNA 的 3' 末端。

## 添附 Buffer 组成 (保存: -20°C):

- 5X TdT Buffer  
500 mM HEPES, pH7.2  
40 mM MgCl<sub>2</sub>  
0.5 mM DTT

## 0.1% BSA

本 buffer 与活性定义所用 buffer 不同。本 buffer 含有在 DNA 3' 末端添加 dNTP 实验的主要成分。

## 使用例:

- 在微量离心管中配制下列反应液。

DNA	4-5 pmol(3' -termini)
5X TdT Buffer	10 μl
0.1% BSA	5 μl
dGTP	0.05-0.5 mM(final)
TdT	10-15 U
灭菌水	up to 50 μl

- 37°C 反应 30 分钟。

- 加入 5 μl 的 5 M NaCl 和 1 μl 的 0.5 M EDTA (pH8.0)。

- 加入 50 μl (等量) 的苯酚/氯仿/异戊醇 (25: 24: 1), 充分混匀, 再用冷的无水乙醇沉淀 DNA。

## 使用注意:

- 影响反应的因素有: 添加的碱基种类 (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), 缓冲液中的二价阳离子 (Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>), DNA 末端结构 (3' -OH 突出末端, 平末端, 3' -OH 凹陷末端<sup>2)</sup>)。因此, 每个反应都需要摸索最适条件。
- 对于长度为 15-40 bp 的核酸链, 如果是 3' -OH 突出末端, dNTPs 与 DNA 的适合摩尔比是 20:1, 如果是 3' -OH 凹陷末端, dNTPs 与 DNA 的适合摩尔比是 100:1。

## 参考文献:

- Bollum F J. *in The Enzymes* (Boyer P D, ed.) (1974) **10**: 145-171.
- Deng G and Wu R. *Methods in Enzymology*. (1983) **100**: 96-116.
- Okayama H and Berg P. *Mol Cell Biol*. (1982) **2**: 161-170.

## 注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联络我们, 或访问我们网站 [www.takarabio.com](http://www.takarabio.com)。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202404Da