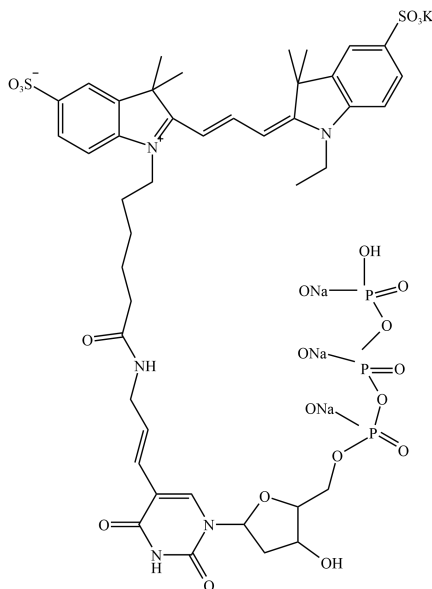
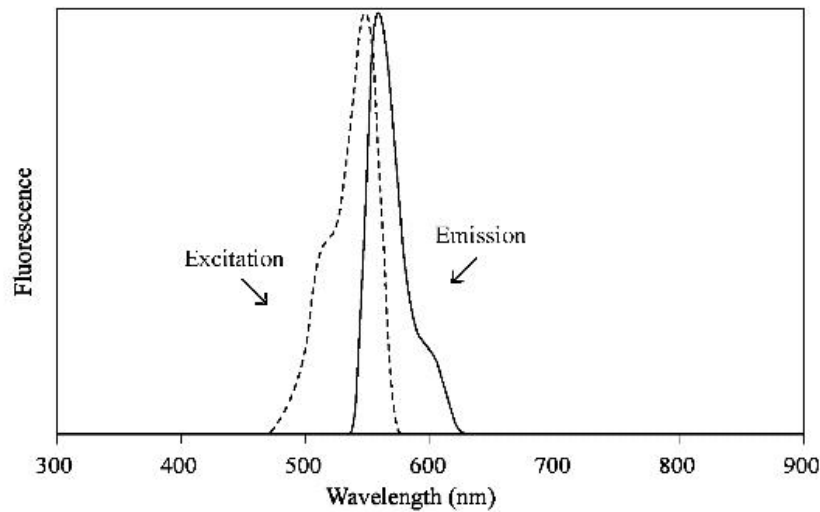


产品说明书

分子结构图:



光谱图：



注意事项

- 1. 本产品仅限于科研，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。
- 2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

一、储液制备

采用 pH 7.4 的 10 mM Tris 溶解后，分装保存，避免反复冻融。

二、DNA 标记

(一) 试剂（自备）

- 1.Taq DNA 聚合酶
- 2.10 × Taq reaction buffer
- 3.25 mM MgCl₂
- 4.dATP, dTTP, dCTP, dGTP（单独溶液） 1 mM each
- 5.DNA 模板
- 6.正向、反向引物，10 μM each
- 7.PCR 清洁试剂盒

(二) PCR 反应

- 1.先按照表 1 反应体系配制 PCR 反应混合液。
- 2.再在每个反应管加 1 μL 1mM YF® dye dUTP 染料。

注：阴性对照管，加 1 μL 1mM dTTP 代替 YF® dye dUTP。

按照表 2 程序运行 PCR 反应。

- 注：(1) 热变性时间依据不同的 Taq 酶进行调整。
- (2) 退火温度设置：T_m - 5 °C。
- (3) 延伸时间根据扩增片段大小而定，一般 200~300 bp 片段设为 1 min 即可。
- 4. 可选步骤。用 PCR 清洁试剂盒去除未掺入的单核苷酸。

表 1 PCR 反应体系

组分	体积	终浓度
10 × Taq reaction buffer	2 μL	1 ×
25 mM MgCl ₂	2 μL	5 mM
1 mM dATP	2 μL	100 μM
1 mM dCTP	2 μL	100 μM

组分	体积	终浓度
1 mM dGTP	2 μ L	100 μ M
1 mM dTTP	1 μ L	50 μ M
10 μ M 正向引物	1 μ L	500 nM
10 μ M 反向引物	1 μ L	500 nM
模板	1 ng	50 pg/ μ L
Taq	1 U	0.05 U/ μ L
dH ₂ O	up to 19 μ L	

表 2 PCR 反应条件

温度	时间	循环
94 $^{\circ}$ C	2 min	Hold
94 $^{\circ}$ C	30 sec	30 个循环
50~60 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	1 min	
72 $^{\circ}$ C	5 min	Hold

(1) 取 10% 的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳（凝胶不加入 DNA 染料），检测 PCR 反应的效率和特异性，通过紫外凝胶成像仪或激光凝胶扫描仪观察。其中远红外染料（波长 ≥ 650 nm），肉眼无法观察。

注：凝胶染色前先观察 YF® 染料的荧光，以免与下一步的凝胶染料发生荧光淬灭。

(2) 采用后染法，使用 DNA 凝胶染料对凝胶进行染色，观察总的 PCR 产物或阴性对照组的 PCR 扩增产物。