Terminal Transferase

REF: EG26107S

储存条件

-20℃保存 2 年

产品组成

组分	规格
Terminal Transferase (20 U/μl)	25 μl
10× TdT Buffer	1.5 ml
$CoCl_2$ (10 mM)	500 μl

产品简介

Terminal Transferase，中文名称末端转移酶，简称 TdT，经大肠杆菌重组表达纯化后获得。TdT 是一种非模板依赖的 DNA 聚合酶，催化脱氧核苷酸添加到寡核苷酸、单链和双链 DNA 分子的 3' 羟基端。TdT 催化寡核苷酸 3' 末端加尾时，通常要求底物具有游离 3' 羟基，且长度至少为 3 个核苷酸。

活性定义

1 个单位是指在 37℃条件下，50 μl 反应体系中，1 小时内能将 1 nmol 的 dTTP 掺入酸不溶物所需的酶量。

产品应用

1. DNA 末端加尾；
2. 5'-RACE；
3. 寡核苷酸或 DNA 3' 末端标记；
4. TUNEL 检测（细胞凋亡的原位检测）。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37℃下，在 20 μl 反应体系中将 20 U Terminal Transferase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37℃下，在 20 μl 反应体系中将 20 U Terminal Transferase 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性

37℃下，在 10 μl 反应体系中将 20 U Terminal Transferase 与 500 ng RNA 共同温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，超过 90% 的 RNA 保持完整。

宿主 DNA 残留

采用中国药典 2025 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法，本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 1 拷贝 /20 U。

使用方法

一、加尾反应

①在冰上配制以下反应体系：

试剂	使用量
DNA	10 pmol[a]
10× TdT Buffer	5 μl
dATP/dTTP/dCTP/dGTP (10 mM)	1 μl
$CoCl_2$ (10 mM)[b]	1.25 μl
Terminal Transferase (20 U/μl)	0.5 μl
ddH_2O	Up to 50 μl

a. 对于寡核苷酸，10 pmol 对应的 ng=3.3× 碱基数。

b. $CoCl_2$ 可提高反应效率，但可能导致下游实验不兼容，请根据实验需求灵活添加。

② 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀，然后瞬时离心收集挂壁液滴；

③ 37℃孵育 30 min。可以根据加尾长度需求自行调整酶量和反应时间，酶量越高、时间越长，加尾长度越长；

④ 70℃孵育 10 min 终止反应。

注：在该条件下进行反应，可添加约 80~100 个 dTTP，60~80 个 dATP 或 dCTP，10 个 dGTP。

二、DNA 末端标记

①在冰上配制以下反应体系：

试剂	使用量
DNA	10 pmol
10× TdT Buffer	5 μl
[α-^{32}P]-ddATP (10 TBq/mmol)	1~2 MBq
$CoCl_2$ (10 mM)[a]	1.25 μl
Terminal Transferase (20 U/μl)	1 μl
ddH_2O	Up to 50 μl

a. $CoCl_2$ 可提高反应效率，但可能导致下游实验不兼容，请根据实验需求灵活添加。

② 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀，然后瞬时离心收集挂壁液滴；

③ 37℃孵育 30~60 min，可以根据实验结果调整酶的用量或反应时间；

④ 70℃孵育 10 min 终止反应。

注意事项

1. TdT 加尾必须有游离 3'- 羟基，没有 3' 羟基就完全不反应：ddNTP 封闭末端、3' 磷酸封闭、3' 修饰阻断的 DNA 均不能作为底物。

2. TdT 对不同脱氧核苷酸加尾效率不同，dTTP ＞ dATP≈dCTP ≫ dGTP。

3. TdT 几乎不能以 RNA 为底物进行加尾。

4. TdT 以 DNA 为底物时，可使用核糖核苷酸为底物进行加尾，但活性远远弱于以脱氧核苷酸为底物进行加尾，前者活性＜后者的 1%。以核糖核苷酸为底物时，GTP ＞ ATP ＞ CTP ＞ UTP。

5. TdT 对不同末端类型加尾效率不同，通常 3' 突出末端＞平末端≈3' 凹陷末端。

6. TdT 加尾长度并不固定，会受到酶量、反应时间、dNTP/ 底物摩尔比等多种因素影响，应根据实验需求调整至最佳条件。

7. 金属离子螯合剂，较高浓度的铵根离子、氯离子、碘例子和磷酸根离子均对 TdT 活性具有抑制作用。

8. 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。

9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利

ISO 13485 高新技术企业 愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号