

Quick Blunting Kit

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|--------------------|------|
| D7013S | Quick Blunting Kit | 20次 |
| D7013M | Quick Blunting Kit | 100次 |

产品简介:

- 碧云天生产的Quick Blunting Kit, 即快速平端化试剂盒, 也称Quick Blunting Kit for Blunt-end Ligation, 即平端连接用快速平端化试剂盒, 或End Repair Kit for Blunt-end Ligation, 即平端连接用末端修复试剂盒, 是一种通过一次反应将双链DNA快速转变为可以用于后续平末端连接反应的试剂盒。本试剂盒可以将含有5'或3'突出(5'- or 3'-overhang)的双链DNA转变为带有5'磷酸和3'羟基的平末端双链DNA, 以便于有效地与平末端载体或接头进行连接反应。
- 本试剂盒提供的Blunting Enzyme Mix (平端化酶混合液)中含有的T4 DNA Polymerase (D7052)同时具有3'→5'外切酶活性和5'→3'聚合酶活性, 可将双链DNA的末端切平和补平并形成平末端。本试剂盒提供的平端化酶混合液中的T4 Polynucleotide Kinase (D7098), 可将平末端双链DNA的5'磷酸化, 并且可以通过其3'磷酸酯酶活性将3'磷酸催化转变为3'羟基, 确保可用于与后续载体或接头进行连接反应。
- 本试剂盒经过优化, 单次反应可以使5μg的DNA平端化、5'磷酸化和3'羟基化。本试剂盒催化的反应请参考图1。

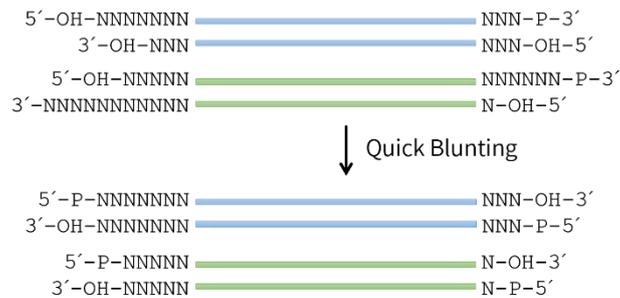


图1. 碧云天生产的Quick Blunting Kit催化的双链DNA的平端化反应示意图。本试剂盒可以催化5'突出的补平(聚合酶反应)、3'突出的切平(3'外切酶反应)、5'羟基的磷酸化(5'多聚核苷酸激酶反应)和3'磷酸转变为3'羟基(3'磷酸酯酶反应)共4个常见的反应。蓝色和绿色分别代表不同的DNA序列。

- 碧云天生产的Quick Blunting Kit平齐化/磷酸化DNA的效果请参考图2。

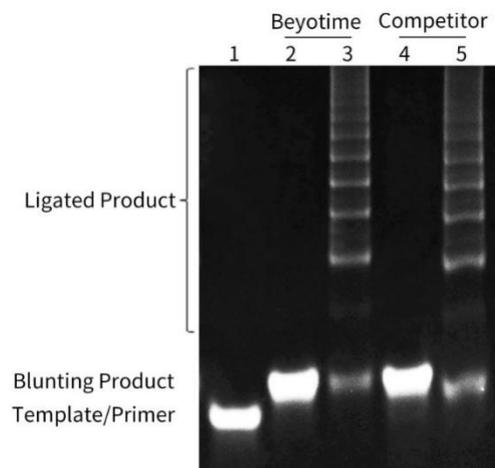


图2. 碧云天生产的Quick Blunting Kit平齐化和磷酸化DNA的效果图。1. 未加入Blunting Enzyme Mix; 2. 用碧云天的Quick Blunting Kit进行平端化和磷酸化反应; 3. 以碧云天的Quick Blunting Kit催化的平端化和磷酸化反应产物为底物, 用快速DNA连接试剂盒(D7002)进行连接; 4. 用Competitor (N公司)的Quick Blunting Kit进行平齐化和磷酸化反应; 5. 以N公司的Quick Blunting Kit催化的平端化和磷酸化反应产物为底物, 用快速DNA连接试剂盒(D7002)进行连接。平端化和磷酸化反应体系(25μl): 0.8μM dsDNA, 1X Blunting Buffer, 0.1mM dNTP mix, 1μl Blunting Enzyme Mix, 25°C孵育15min, 70°C孵育10min进行失活; 随后取出2μl反应液, 用Nuclease-Free Water补足至5μl, 加入1μl 6X DNA Loading Buffer, 然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 之后用NA-Red (EB升级换代产品, 2000X) (D0128)室温染色15min, 使用凝胶成像设备观察实验结果。连接

反应体系(20 μ l): 8 μ l待连片段, 1X Rapid Ligation Buffer, 2 μ l Rapid T4 DNA ligase, 25 $^{\circ}$ C孵育15min, 65 $^{\circ}$ C孵育10min进行失活; 随后取出5 μ l反应液, 加入1 μ l 6X DNA Loading Buffer, 然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 随后用NA-Red (EB升级版换代产品, 2000X) (D0128)室温染色15min, 使用凝胶成像设备观察实验结果。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。dsDNA是由DNA Template和Primer按照D0251产品说明书中推荐的程序进行退火反应得到的产物, Template: 5'-OH-ATACATAGATACATAGACTGGCCGTCGTTTTAC-OH-3', Primer: 5'-OH-GTAAAACGACGGCCAGT-OH-3'。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- Quick Blunting Kit, 即快速平端化试剂盒, 也称快速平末端化试剂盒、快速末端平滑试剂盒、快速末端平滑化试剂盒、快速末端平齐化试剂盒, 也称End Repair Kit for Blunt-end Ligation或End Repair Kit for Blunt-end DNA Ligation, 即平端连接用末端修复试剂盒、平端连接用DNA末端修复试剂盒。
- 用途: 对酶切、机械打断等片段化的DNA进行平端化处理, 以便于与质粒、cosmid、fosmid或BAC载体、以及二代测序的DNA adaptor等进行连接; PCR产物、cDNA等进行平端化以便于进行平末端克隆或高通量测序接头连接。
- 本试剂盒的反应体系为25 μ l时, 小包装和中包装可分别使用20和100次。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|---------------------|-------------|
| D7013S-1 | Blunting Enzyme Mix | 20 μ l |
| D7013S-2 | 10X Blunting Buffer | 100 μ l |
| D7013S-3 | dNTP Mix (1mM) | 60 μ l |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|---------------------|-------------|
| D7013M-1 | Blunting Enzyme Mix | 100 μ l |
| D7013M-2 | 10X Blunting Buffer | 500 μ l |
| D7013M-3 | dNTP Mix (1mM) | 300 μ l |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存, 至少一年有效。

注意事项:

- PCR产物需要适当纯化后再用本产品进行平端化和5'磷酸化。
- 限制性内切酶消化产生的DNA很多情况下可以不经过纯化步骤, 直接进行平端化、5'磷酸化和3'去磷酸化反应。虽然反应效率可能会有一定差异, 但不会影响平端克隆。如果用于高通量测序建库, 需要酌情考虑是否需要纯化后再进行后续反应。
- 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. 平端化、5'磷酸化和3'去磷酸化反应。

- 参考下表, 在冰浴上设置反应体系。

| Reagent | Volume | Final Concentration |
|---------------------|----------------|---------------------|
| Nuclease-Free Water | (19-x) μ l | - |
| dsDNA (10 μ M) | x μ l | 0.8 μ M |
| 10X Blunting Buffer | 2.5 μ l | 1X |
| dNTP Mix (1mM each) | 2.5 μ l | 0.1mM |
| Blunting Enzyme Mix | 1 μ l | - |
| Total Volume | 25 μ l | - |

注: 按上表设置好反应体系后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用Vortex在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体; 如果同时进行多个反应, 可以把上表中除dsDNA之外的所有溶液和酶预混合, 然后再分装到各反应管。

- 反应条件: 25 $^{\circ}$ C孵育15min。
- 终止反应: 70 $^{\circ}$ C孵育10min。

2. 连接反应。

推荐使用碧云天的DNA连接试剂盒(D7002/D7003)或T4 DNA Ligase (D7006/D7008)或类似产品, 以上述反应得到的产物作为底物, 进行连接反应。连接反应体系和连接条件按照DNA连接试剂盒或T4 DNA Ligase的使用说明进行即可。

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|------|------|----|
|------|------|----|

| | | |
|------------|---|----------|
| D7002 | 快速DNA连接试剂盒 | 100次 |
| D7003 | 快速DNA连接试剂盒 | 500次 |
| D7006 | T4 DNA Ligase | 40,000U |
| D7008 | T4 DNA Ligase | 200,000U |
| D7012 | DNA末端平滑试剂盒 | 20次 |
| D7013S | Quick Blunting Kit | 20次 |
| D7013M | Quick Blunting Kit | 100次 |
| D7035 | Klenow Fragment | 100U |
| D7039 | Klenow Fragment, Exo- | 100U |
| D7051 | T4 DNA Polymerase | 50U |
| D7052S | T4 DNA Polymerase | 150U |
| D7052M | T4 DNA Polymerase | 750U |
| D7052L | T4 DNA Polymerase | 3kU |
| D7096 | T4 Polynucleotide Kinase | 100U |
| D7097 | T4 Polynucleotide Kinase | 500U |
| D7098S | T4 Polynucleotide Kinase | 500U |
| D7098M | T4 Polynucleotide Kinase | 2000U |
| D7098L | T4 Polynucleotide Kinase | 10000U |
| D7100S | T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus) | 500U |
| D7100M | T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus) | 2000U |
| D7100L | T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus) | 10000U |
| D7160S | BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-) | 10KU |
| D7160M | BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-) | 50KU |
| D7160L | BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-) | 200KU |
| D7176S | BeyoRT™ III M-MLV反转录酶 | 10KU |
| D7176M | BeyoRT™ III M-MLV反转录酶 | 50KU |
| D7176L | BeyoRT™ III M-MLV反转录酶 | 200KU |
| D7213S | BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase | 200U |
| D7213M | BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase | 1000U |
| D7215S | BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase | 200U |
| D7215M | BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase | 1000U |
| D7220 | BeyoFusion™ DNA Polymerase | 200U |
| D7221 | BeyoFusion™ DNA Polymerase | 1000U |
| R0102-2kU | RNase Inhibitor | 2000U |
| R0102-10kU | RNase Inhibitor | 10000U |
| R0102-50kU | RNase Inhibitor | 50000U |
| R0621S | T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase) | 1000U |
| R0621M | T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase) | 5000U |
| R0632S | T4 RNA Ligase 2 (dsRNA Ligase) | 1000U |
| R0635S | T4 RNA Ligase 2, truncated | 5kU |
| R0635M | T4 RNA Ligase 2, truncated | 20kU |
| R0635L | T4 RNA Ligase 2, truncated | 100kU |
| R0700S | 小RNA 3'接头(5'腺苷化, 3'封闭)及连接试剂盒 | 20次 |
| R0702S | Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭) | 1μg |
| R0702M | Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭) | 5μg |
| R0716S | 5' DNA Adenylation Kit | 10次 |
| R0716M | 5' DNA Adenylation Kit | 50次 |
| R7090S | Thermostable RNase H | 250U |
| R7090M | Thermostable RNase H | 1000U |
| R7090L | Thermostable RNase H | 5000U |

Version 2021.10.26