

核酸标记探针选择指南

dUTP 和 UTP 探针选择指南

Applied BioProbes 最新推出一系列荧光素和生物素标记 dUTP 和 UTP 探针。这些探针可广泛应用于 FISH, TUNEL, DNA microarray 等应用。我们的探针采用荧光亮度强，光稳定性好的 Andy Fluor 染料标记，并且在染料和 dUTP 及 UTP 之间设计一条特殊的 X-linker 以确保在酶的作用下更有效的插入 DNA 或 RNA。

产品特点

- ◆ 荧光信号强，稳定性好，背景低；
- ◆ 多种颜色可供选择，适合多重染色；
- ◆ 适用性广：适用于各种酶的标记。

产品应用

- ◆ FISH
- ◆ TUNEL(细胞凋亡)
- ◆ DNA microarray
- ◆ 其它基于标记探针的研究

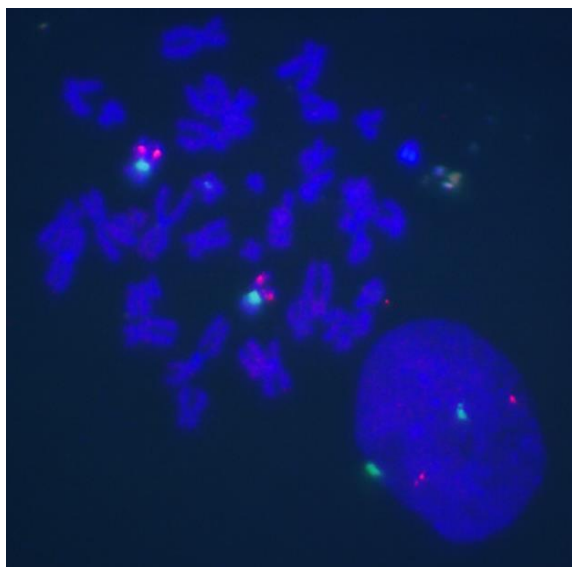


Figure 1. Fluorescence in situ Hybridization (FISH) of CEP7/MET probes labeled with Andy Fluor dyes. Human Chromosome 7 Enumeration (CEP7) and Human c-Met gene (MET) probes were labeled with Andy Fluor 488-X-dUTP (green) and Andy Fluor 568-X-dUTP (magenta), respectively, using nick translation. The labeled probes were mixed together in hybridization buffers with blocking DNA, and incubated with HT1080 cells on slides at 37°C overnight. The slides were washed and mounted with AntiFade solution containing DAPI (blue), then visualized with an Epi-Fluorescence microscope.

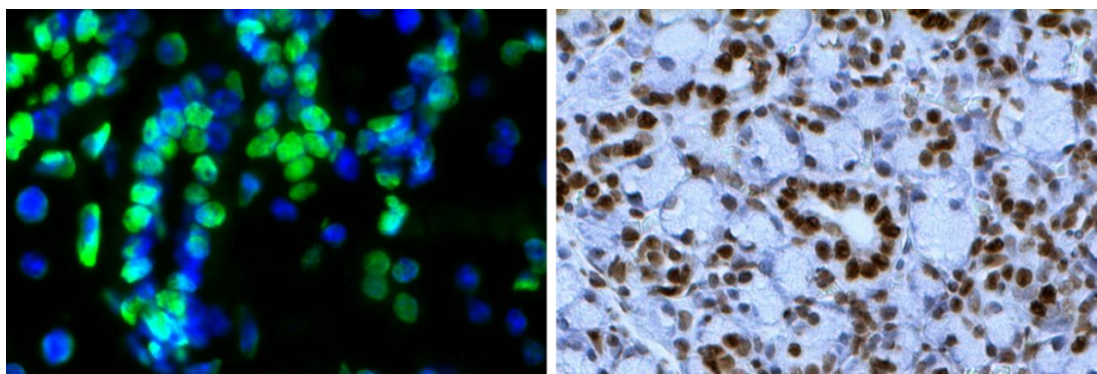


Figure 2. Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL)-mediated detection of apoptotic cells in mouse tongue tissue using Biotin-11-dUTP. Left: Cells were labeled with Biotin-11-dUTP, followed by detection with AndyFluor™ 488-streptavidin (green). Nuclei were also counterstained with DAPI (blue). Right: Cells were labeled with Biotin-11-dUTP, followed by detection with horse radish peroxidase (HRP).

核酸标记探针

货号	产品名称 (点击查看详情)	激发/发射波长(nm) (底色为荧光颜色)	规格	价格 (¥)
C401A	5-Aminoallyl-dUTP, 10 mM in TE buffer	—	100 µL	1200
C401B	5-Aminoallyl-dUTP, lyophilized powder	—	1 µmol	1200
C402A	5-Aminoallyl-UTP, 10 mM in TE buffer	—	100 µL	1100
C402B	5-Aminoallyl-UTP, lyophilized powder	—	1 µmol	1100
C403A	Biotin-11-dUTP, 1 mM in TE buffer	—	50 µL	1800
C403B	Biotin-11-dUTP, lyophilized powder	—	50 nmol	1800
C404A	Biotin-11-UTP, 1 mM in TE buffer	—	50 µL	1800
C404B	Biotin-11-UTP, lyophilized powder	—	50 nmol	1800
C405A	5-FAM-dUTP, 1 mM in TE buffer	495/518	25 µL	1400
C405B	5-FAM-dUTP, lyophilized powder	495/518	25 nmol	1400
C406A	5-FAM-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	495/518	25 µL	1800
C406B	5-FAM-X-dUTP, lyophilized powder	495/518	25 nmol	1800
C407A	5-FAM-UTP, 1 mM in TE buffer	495/518	25 µL	1400
C407B	5-FAM-UTP, lyophilized powder	495/518	25 nmol	1400
C408A	5-FAM-X-UTP, 1 mM in TE buffer	495/518	25 µL	1800
C408B	5-FAM-X-UTP, lyophilized powder	495/518	25 nmol	1800
C409A	Andy Fluor 488-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	500/525	25 µL	2800
C409B	Andy Fluor 488-X-dUTP, lyophilized powder	500/525	25 nmol	2800
C410A	Andy Fluor 488-X-UTP, 1 mM in TE buffer	500/525	25 µL	2800
C410B	Andy Fluor 488-X-UTP, lyophilized powder	500/525	25 nmol	2800
C411A	Andy Fluor 555-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	553/565	25 µL	2800
C411B	Andy Fluor 555-X-dUTP, lyophilized powder	553/565	25 nmol	2800

咨询购买：15311652008（电话/微信）

C412A	Andy Fluor 555-X-UTP, 1 mM in TE buffer	553/565	25 µL	2800
C412B	Andy Fluor 555-X-UTP, lyophilized powder	553/565	25 nmol	2800
C413A	Andy Fluor 568-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	578/602	25 µL	2800
C413B	Andy Fluor 568-X-dUTP, lyophilized powder	578/602	25 nmol	2800
C414A	Andy Fluor 568-X-UTP, 1 mM in TE buffer	578/602	25 µL	2800
C414B	Andy Fluor 568-X-UTP, lyophilized powder	578/602	25 nmol	2800
C415A	Andy Fluor 594-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	590/615	25 µL	2800
C415B	Andy Fluor 594-X-dUTP, lyophilized powder	590/615	25 nmol	2800
C416A	Andy Fluor 594-X-UTP, 1 mM in TE buffer	590/615	25 µL	2800
C416B	Andy Fluor 594-X-UTP, lyophilized powder	590/615	25 nmol	2800
C417A	Andy Fluor 647-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	650/665	25 µL	2800
C417B	Andy Fluor 647-X-dUTP, lyophilized powder	650/665	25 nmol	2800
C418A	Andy Fluor 647-X-UTP, 1 mM in TE buffer	650/665	25 µL	2800
C418B	Andy Fluor 647-X-UTP, lyophilized powder	650/665	25 nmol	2800
C419A	Cy3-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	553/565	25 µL	2400
C419B	Cy3-X-dUTP, lyophilized powder	553/565	25 nmol	2400
C420A	Cy3-X-UTP, 1 mM in TE buffer	553/565	25 µL	2400
C420B	Cy3-X-UTP, lyophilized powder	553/565	25 nmol	2400
C421A	Cy5-X-dUTP, 1 mM in TE buffer	650/665	25 µL	2400
C421B	Cy5-X-dUTP, lyophilized powder	650/665	25 nmol	2400
C422A	Cy5-X-UTP, 1 mM in TE buffer	650/665	25 µL	2400
C422B	Cy5-X-UTP, lyophilized powder	650/665	25 nmol	2400

为了进一步提高检测灵敏度，基于链霉亲和素的信号放大技术广泛应用于荧光成像实验，以检测生物素化的生物分子，例如一抗和二抗、配体和毒素、或原位杂交中的DNA/RNA 探针。

基于链霉亲和素的检测技术通过一个简单的操作步骤，为中等丰度和低丰度的靶标提供了有效的信号放大作用。

生物素结合的蛋白家族包括链霉亲和素（streptavidin）、亲和素（avidin），每个蛋白都能够以高度的亲和力和特异性结合四个生物素分子。其中最常使用的是链霉亲和素，它未经糖基化且具有很低的非特异性结合水平。亲和素则是一种高度阳离子化的糖蛋白，等电点在 10.5 左右，它的正电荷残基和低聚糖成份能够介导非特异性结合，从而在某些应用中导致本底过高的问题。

如何选择标记方式：

- 高丰度靶标——一级偶联物，无需进行信号放大
- 中等丰度靶标——二级偶联物，适度信号放大
- 中低丰度靶标——链霉亲和素偶联物，需要显著增强信号
- 低丰度靶标——酶学放大，以获得最大的信号增强效果

封闭内源性生物素

哺乳动物细胞和组织中包含依赖生物素的羧化酶，它们为多种代谢功能所需。这些包含生物素的酶类通常会在用于鉴定细胞靶标的生物素-链霉亲和素检测系统，或生物素-亲和素检测系统中产生严重的本底信号干扰。内源性生物素尤其在线粒体中和肾脏、肝脏、脑组织中广泛存在。

当您使用生物素-链霉亲和素检测系统检测高内源性生物素水平的细胞或组织内的靶标时，内源性生物素封闭试剂盒（Endogenous Biotin-Blocking Kit, EBK）能够帮助您减弱本底信号。

如何选择链霉亲和素偶联物？

链霉亲和素有多种与荧光染料结合的偶联物，可以对很多靶标进行标记和成像。传统染料偶联物用于大多数标准化操作流程中，让您能够在很宽的波长范围内实现对靶标的成像；而 Andy Fluor 偶联物则可提供更明亮的荧光信号，并能有效抵抗标准光源及波长设置下的光漂白作用。

链霉亲和素耦合物

货号	产品名称（点击查看详情）	激发/发射波长(nm)	规格	价格（¥）
L155A L155B	Andy Fluor™ 350 Streptavidin	345/440	100 µg 500 µg	300 600
L156A L156B	Andy Fluor™ 488 Streptavidin	495/520	100 µg 500 µg	300 600
L157A L157B	Andy Fluor™ 555 Streptavidin	553/565	100 µg 500 µg	300 600
L158A L158B	Andy Fluor™ 594 Streptavidin	590/615	100 µg 500 µg	300 600
L159A	Andy Fluor™ 647 Streptavidin	650/665	100 µg	300

咨询购买：15311652008（电话/微信）

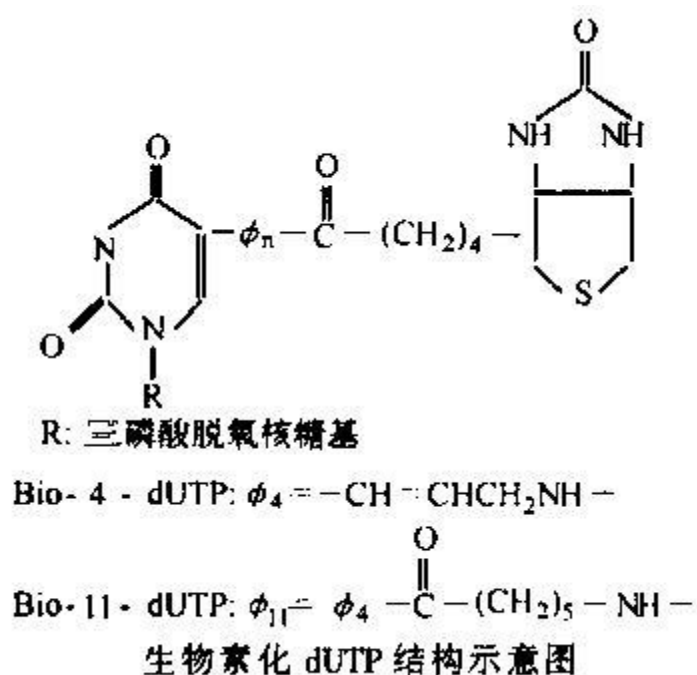
L159B			500 µg	600
L160A L160B	Cy®3 Streptavidin	555/568	100 µg 500 µg	300 600
L161A L161B	Cy®5 Streptavidin	650/665	100 µg 500 µg	300 600

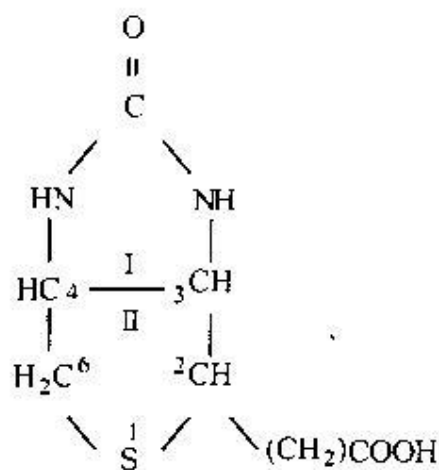
更多背景知识：

生物素-亲和素系统（biotin-avidin system，BAS）是以生物素和亲和素具有的独特结合特性为基础，结合二者即可偶联抗原抗体等大分子生物活性物质，它们的结合迅速、专一、稳定，并具有多级放大效应。自 20 世纪 70 年代，BAS 开始应用于免疫化学领域以来，利用 BAS 可被荧光素、酶、放射性核素等材料标记的特点而发展和建立了许多新的检测方法和技术，尤其是与免疫标记技术的有机结合，极大地提高了测定的灵敏度。目前，BAS 技术已在整个生物学领域中得到广泛应用，成为当今生物医学研究工作中最且使用价值和发展前途的技术之一。

生物素脱氧核苷三磷酸先将生物素与某种脱氧核苷酸连接成活化生物素，如生物素化 dUTP（Bio-11-dUTP，下图）。

Bio-11-dUTP 作为 TTP 的结构类似物，可采用缺口移位法通过 DNase 和 DNA 聚合酶 I 的作用而掺入到双链 DNA 中。





生物素分子结构式

I 为咪唑酮环；II 为噻吩环

生物素—亲和素系统在分子生物学中的应用

BAS 在分子生物学领域中的应用日渐增多，目前主要集中在以生物素标记核酸探针进行的定位检测，自从合成了生物素化的脱氧三磷酸腺苷（dUTP）和 UTP 等核苷酸单体以来，以生物素化多核苷酸为探针的核酸杂交技术有了很大发展。生物素标记核酸探针常用于 Southern、Northern 和原位杂交等。实验时，标记探针先与细胞或染色体原位（或是固定在乙酸纤维素膜上）的变形核酸分子进行杂交，然后用偶联了酶或荧光物质的亲和素（或链霉亲和素）识别杂交互补片段，使其显色或产生荧光。这种非放射性标记技术具有灵敏、安全、简便快速和经济的特点，并且克服了放射性探针标记与检测的缺点，应用潜力巨大。

自从合成了生物素化的脱氧三磷酸腺苷（dUTP）和 UTP 等核苷酸单体以来，以生物素化多核苷酸为探针的核酸杂交技术有了很大发展。生物素标记核酸探针常用于 Southern、Northern 和原位杂交等。实验时，标记探针先与细胞或染色体原位（或是固定在乙酸纤维素膜上）的变形核酸分子进行杂交，然后用偶联了酶或荧光物质的亲和素（或链霉亲和素）识别杂交互补片段，使其显色或产生荧光。这种非放射性标记技术具有灵敏、安全、简便快速和经济的特点，并且克服了放射性核素探针标记与检测的缺点，应用潜力巨大。

生物素（biontin, B）广泛分布于动、植物组织中，常从含量较高的卵黄和肝组织中提取，分子量 244. 31kD。生物素分子有两个环状结构（图 11-1），其中 I 环为咪唑酮环，是与亲和素结合的主要部位；II 环为噻吩环，C 2 上有一戊酸侧链，其末端羧基是结合抗体和其他生物大分子的惟一结构，经化学修饰后，生物素可成为带有多种活性基团的衍生物——活化生物素（图 1）。亲和素（avidin, AV）亦称抗生物素蛋白、卵白素，是从卵白蛋白中提取的一种由 4 个相同亚基组成的碱性糖蛋白，分子量为 68kD，等电点 pI=10.5；耐热并耐受多种蛋白水解酶的作用，尤其是与生物素结合后，稳定性更好。每个亲和素能结合 4 个分子的生物素，二者之间的亲和力极强，亲和素常数（K）为 $1.0 \times 10^{15} \text{ L/mol}$ ，比抗原与抗体间的亲和力（ $K=10^5 \sim 10^{11} \text{ L/mol}$ ）至少高 1 万倍，因此二者的结合特异性高和稳定性好。亲和素以结合 $1 \mu\text{g}$ 生物素所需的量作为其活性单位，1mg 纯的亲和素的活性约为 13—15U。

因此，BAS 即可用于微量抗原、抗体及受体的定量、定性检测及定位观察研究，亦可制成亲和介质用于上述各类反应体系中反应物的分离、纯化。BAS 在实际应用中所具有的巨大优越性，主要表现在以下几个方面。

一、灵敏度

生物素容易与蛋白质和核酸类等生物大分子结合，形成的生物素衍生物，不仅保持了大分子物质的原有生物活性，而且比敏感度

咨询购买：15311652008（电话/微信）

高，具多价性。此外，每个亲和素分子有四个生物素结合部位，可同时以多价形式结合生物素化的大分子衍生物和标记物。因此，BAS 具有多级放大作用，使其在应用时可极大地提高检测方法的灵敏度。

二、特异性

亲和素与生物素间的结合具有极高的亲和力，其反应呈高度专一性。因此，BAS 的多层次放大作用在提高灵敏度的同时，并不增加非特异性干扰。而且，BAS 结合特性不会因反应试剂的高度稀释而受影响，使其在实际应用中可最大限度地降低反应试剂的非特异作用。

三、稳定性

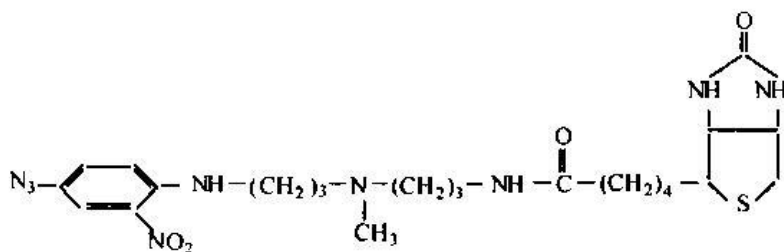
亲和素结合生物素的亲和常数可为抗原-抗体反应的百万倍，二者结合形成复合物的解离常数很小，呈不可逆反应性；而且酸、碱、变性剂、蛋白溶解酶以及有机溶剂均不影响其结合。因此，BAS 在实际应用中，产物的稳定性高，从而可降低操作误差，提高测定的精确度。

四、适用性

生物素和亲和素均可制成多种衍生物，不仅可与酶、荧光素和放射性核素等各类标记技术结合，用于检测体液、组织或细胞中的抗原-抗体、激素一受体和核酸系统以及其他多种生物学反应体系，而且也可制成亲和介质，用于分离提纯上述各反应体系中的反应物。此外，多种 BAS 的商品化试剂，为临床检测和科研工作提供了有利条件。

五、其他

BAS 可依据具体实验方法要求制成多种通用性试剂（如生物素化第二抗体等）适用于不同的反应体系，而且都可高度稀释，用量很少，实验成本低；尤其是 BAS 与成本高昂的抗原特异性第一抗体偶联使用，可使后者的用量大幅度减少，节约实验费用。此外，由于生物素与亲和素的结合具高速、高效的特性，尽管 BAS 的反应层次较多，但所需的温育时间不长，实验往往只需数小时即可完成

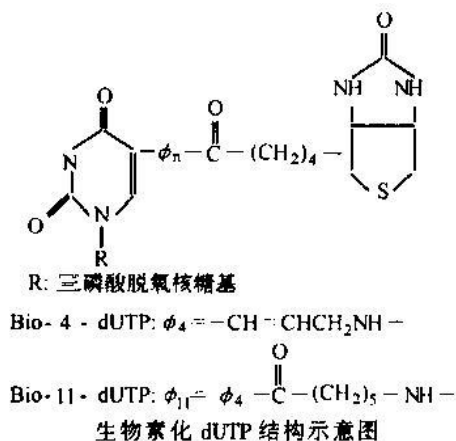


光敏生物素结构示意图

2. 生物素脱氧核苷三磷酸先将生物素与某种脱氧核苷酸连接成活化生物素，如生物素化 dUTP (Bio-11-dUTP, 下图)。Bio-

11-dUTP 作为 TTP 的结构类似物，可采用缺口移位法通过 DNase 和 DNA 聚合酶 I 的作用而掺入到双链 DNA 中。

咨询购买：15311652008（电话/微信）



生物素—亲和素系统在分子生物学中的应用

BAS 在分子生物学领域中的应用日渐增多，目前主要集中在以生物素标记核酸探针进行的定位检测，自从合成了生物素化的脱氧三磷酸腺苷（dUTP）和 UTP 等核苷酸单体以来，以生物素化多核苷酸为探针的核酸杂交技术有了很大发展。生物素标记核酸探针常用于 Southern、Northern 和原位杂交等。实验时，标记探针先与细胞或染色体原位（或是固定在乙酸纤维素膜上）的变形核酸分子进行杂交，然后用偶联了酶或荧光物质的亲和素（或链霉亲和素）识别杂交互补片段，使其显色或产生荧光。这种非放射性标记技术具有灵敏、安全、简便快速和经济的特点，并且克服了放射性探针标记与检测的缺点，应用潜力巨大。

自从合成了生物素化的脱氧三磷酸腺苷（dUTP）和 UTP 等核苷酸单体以来，以生物素化多核苷酸为探针的核酸杂交技术有了很大发展。生物素标记核酸探针常用于 Southern、Northern 和原位杂交等。实验时，标记探针先与细胞或染色体原位（或是固定在乙酸纤维素膜上）的变形核酸分子进行杂交，然后用偶联了酶或荧光物质的亲和素（或链霉亲和素）识别杂交互补片段，使其显色或产生荧光。这种非放射性标记技术具有灵敏、安全、简便快速和经济的特点，并且克服了放射性核素探针标记与检测的缺点，应用潜力巨大。

更多辅助试剂

各种进口载玻片/盖玻片

封片剂

请联系咨询