



端粒酶活性 TRAP 电泳分析试剂盒（银染法）

产品货号	产品名称	包装
DW1157	端粒酶活性 TRAP 电泳分析试剂盒（银染法）	10T

主要用途：

Dowobio 银染法组织端粒酶活性 TRAP 电泳分析试剂是一种旨在通过端粒酶体外合成端粒重复序列的引物延展方法，继而进行多聚酶联扩增反应，在非变性聚丙烯酰胺电泳上，通过经典的银染技术，呈现六碱基相间的阶梯图像，以分析和评价活细胞端粒酶活性的权威而经典的技术方法。该技术经过精心研制、成功实验证明的。广泛应用于肿瘤、衰老等研究。产品即到即用，性能稳定，无核酶污染，操作便捷，敏感高效，染色清晰，重复性好。

技术背景：

端粒重复序列扩增方法（telomeric repeat amplification protocol; TRAP）是基于多聚酶联扩增的敏感高效的体外端粒酶活性的检测技术。首先，非端粒单核苷酸引物作为端粒酶的底物而持续延长产生六碱基差异的片段；然后，延长所获得的产物在非端粒单核苷酸引物和逆向引物的参与下进行特异性扩增；内参引物的整合用于定量酶活性。银染技术可以检测 25 至 50 皮克 DNA 条带。

产品内容：

Dowobio 清理液 (Reagent A)	毫升
Dowobio 裂解液 (Reagent B)	毫升
Dowobio 反应液 (Reagent C)	毫升
Dowobio 上样液 (Reagent D)	微升
Dowobio 胶底液 (Reagent E)	毫升
Dowobio 凝结液 (Reagent F)	毫升
Dowobio 促进液 (Reagent G)	毫升
Dowobio 胶体液 (Reagent H)	毫升
Dowobio 电泳液 (Reagent I)	毫升
Dowobio 固定液 A (Reagent J)	毫升
Dowobio 固定液 B (Reagent K)	毫升
Dowobio 染色液 (Reagent L)	毫升
Dowobio 中和液 (Reagent M)	毫升
Dowobio 显影液 A (Reagent N)	微升
Dowobio 显影液 B (Reagent O)	微升
Dowobio 终止液 (Reagent P)	毫升
产品说明书	1 份

用户自备：

- 无离子水：用于稀释浓缩型试剂
- 200 毫升烧杯：用于配制工作液的容器
- 1.5 毫升离心管：用于细胞裂解的容器 0.5 毫升 PCR 管：用于扩增反应的容器
- 15 毫升锥形离心管：用于胶体溶液配制的容器
- 50 毫升锥形离心管：用于胶体溶液配制和溶液混匀的容器



PCR 仪：用于扩增反应物
微型台式离心机：用于样品操作
电泳仪：用于 TRAP 分子电泳分离
平式摇荡仪：用于染色反应
染色塑料盒：用于 PAGE 凝胶染色的容器

实验步骤：

一、样品制备

组织：

1. 手术取出动物组织，并秤取 100 毫克待测组织
2. 放进预冷的 50 毫升锥形离心管
3. 加入 xx 毫升预冷的 Dowobio 清理液 (Reagent A)
4. 小心移去清理液
5. 移入到一个冻存管
6. 即刻放进液氮罐过夜
7. 次日从液氮罐里取出，即刻（最快速度）用研磨棒碾碎组织成粉末状（注意：切莫使组织冻融）
8. 放进匀浆器
9. 加入 xx 微升预冷的 Dowobio 裂解液 (Reagent B)
10. 用移液器吹打混匀
11. 小心转移到 1.5 毫升离心管
12. 放进冰槽里孵育 30 分钟
13. 即刻放进 4°C 微型台式离心机离心 10 分钟，速度为 16000g（或 13000RPM，例如 eppendorf 5415）
14. 小心移取上清液到新的无菌的 1.5 毫升离心管
15. 移取 10 微升进行蛋白定量检测（注意：建议使用 Dowobio bca 蛋白浓度检测试剂盒）
16. 放进 -70°C 的冰箱里保存或置于冰槽里备用

细胞：

1. 准备 1 个细胞培养 6 孔板的单孔细胞，直至生长至 80% 铺满率 (1 X 10⁵ 细胞)
2. 小心抽去细胞培养液
3. 加入 xx 毫升预冷的 Dowobio 清理液 (Reagent A)
4. 小心移去清理液
5. 用细胞刮脱棒刮落细胞转移到 1.5 毫升离心管
6. 放进微型台式离心机离心 5 分钟，速度为 3000g（或 6000RPM，例如 eppendorf 5415）
7. 小心抽去上清液
8. 小心加入 xx 微升预冷的 Dowobio 裂解液 (Reagent B)，混匀细胞颗粒群



9. 放进冰槽里孵育 30 分钟
10. 移取 10 微升进行蛋白定量检测 (注意: 建议使用 Dowobio BCA 蛋白质浓度定量试剂盒)
11. 移取 10 微升进行蛋白定量检测 (注意: 建议使用 Dowobio BCA 蛋白质浓度定量试剂盒 -)
12. 即刻放进 - 70°C 冰箱里保存或置于冰槽里备用

二、扩增反应

1. 准备 2 个 0.5 毫升 PCR 管, 置于冰槽里

2. 按照下表依次加入反应物

内容物	样品管	阴性对照管
Dowobio 反应液 (Reagent C)	48 微升	48 微升
组织裂解悬液样品	2 微升 (200 纳克组织总蛋白)	—
Dowobio 裂解液 (Reagent B)	—	2 微升
总量	50 微升	50 微升

3. 混匀
4. 室温下 (30°C) 孵育 30 分钟
5. 即刻放进 PCR 仪, 按照下表扩增

反应温度 (°C)	反应时间	反应循环
94	90 秒	7
90	30 秒	35 至 40
60	30 秒	
72	60 秒	

6. 分别加入 xx 微升 Dowobio 上样液 (Reagent D)
7. 置入冰槽里等待上样

三、垂直电泳分析

实验开始前, 将 Dowobio 胶底液 (Reagent E)、Dowobio 凝结液 (Reagent F)、Dowobio 促进液 (Reagent G) 和 Dowobio 胶体液 (Reagent H) 放进 37°C 恒温水槽预热。然后进行下列操作。

1. 移出 xx 毫升 Dowobio 胶底液 (Reagent E) 到 15 毫升锥形离心管里
2. 加入 xx 微升 Dowobio 凝结液 (Reagent F)
3. 加入 xx 微升 Dowobio 促进液 (Reagent G)
4. 混匀后, 即刻移入玻璃槽, 避免气泡
5. 在室温下孵育 45 分钟, 或直至胶体凝结



6. 移出 xx 毫升 Dowobio 胶体液 (Reagent H) 到 50 毫升锥形离心管里
7. 加入 xx 微升 Dowobio 凝结液 (Reagent F)
8. 加入 xx 微升 Dowobio 促进液 (Reagent G)
9. 混匀后, 即刻移入玻璃槽, 避免气泡
10. 插入 10 孔梳
11. 在室温下孵育 45 分钟, 或直至胶体凝结
12. 移取 xx 毫升 Dowobio 电泳液 (Reagent I) 到 500 毫升容器里, 加入 450 毫升无离子水, 混匀后, 标记为 Dowobio 电泳工作液
13. 加入适量的 Dowobio 电泳工作液到电泳槽里
14. 在 4°C 环境下预运行 15 分钟, 电压为 150 伏
15. 上样: 25 微升 (注意: 使用 20 碱基的 DNA marker)
16. 继续 4°C 环境下电泳 2 小时, 电压为 150 伏, 或直至溴酚蓝 (Bromophenol Blue) 染料移动到胶体三分之二处
17. 拆除电泳装置, 取出电泳玻璃板块 (注意: 胶体脆弱)
18. 分离玻璃板块, 切除胶底
19. 将胶体放进染色塑料盒里

四、染色处理

1. 小心加入 xx 毫升 Dowobio 固定液 A (Reagent J) 到上述塑料盒里
2. 小心加入 xx 毫升 Dowobio 固定液 B (Reagent K), 混匀
3. 置于平式震荡仪上, 在室温下孵育 30 分钟, 速度为 50RPM
4. 小心倒去固定液
5. 小心加入 80 毫升用户自备的无离子水
6. 小心加入 xx 毫升 Dowobio 染色液 (Reagent L)
7. 置于平式震荡仪上, 在室温下孵育 30 分钟, 速度为 50RPM, 避免光照
8. 小心倒去 Dowobio 染色液 (Reagent L)
9. 小心加入 100 毫升用户自备的无离子水
10. 置于平式震荡仪上, 在室温下孵育 1 分钟, 速度为 50RPM
11. 小心倒去无离子水
12. 准备 1 个 200 毫升烧杯
13. 加入 80 毫升用户自备的无离子水
14. 加入 xx 毫升 Dowobio 中和液 (Reagent M)
15. 加入 xx 微升 Dowobio 显影液 A (Reagent N)
16. 加入 xx 微升 Dowobio 显影液 B (Reagent O), 混匀
17. 小心倒入塑料盒里
18. 置于平式震荡仪上, 在室温下孵育 6 分钟, 速度为 50RPM (注意: 可见金黄色条带; 避免过度染色)
19. 小心倒去显影液
20. 小心加入 80 毫升用户自备的无离子水
21. 小心加入 xx 毫升 Dowobio 终止液 (Reagent P), 混匀
22. 置于平式震荡仪上, 在室温下孵育 30 分钟, 速度为 50RPM (注意: 可以保存在终止液里)
23. 小心取出胶体
24. 即刻置于自动成像仪上成像记录, 并测算条带强度
25. 计算端粒酶活性:
所有阶梯条带强度累加之和 ÷ 内参条带强度 = 相对 TRAP 活性



多沃生物

Dowobio Biotechnology Co., Ltd



注意事项：

1. 本产品为 10 次操作 (包括 10 次裂解、20 次反应、2 次电泳)
2. 整个操作过程, 须戴手套
3. 必须使用带滤芯的枪头
4. 所有器皿、离心管、液体等无 RNA 酶污染
5. 建议使用裂解液作为阴性对照
6. 内参分子大小为 36bp
7. 内参条带信号过弱, 表明端粒酶活性过高, 建议稀释或减少样品量; 建议实验操作增加样品浓度梯度
8. 电泳前注意清洗样品孔
9. 电泳操作注意安全
10. 染色时, 须在室温下操作, 并避免光照; 避免过度染色
11. 染色时间可以根据情况调整 (参考图像如下: 黑色箭头指示内参条带 36 碱基; 括号区域表明六碱基相间的阳性条带, 起始条带为 50 碱基)
12. 本公司提供系列 TRAP 实验技术产品

质量标准：

1. 本产品经鉴定性能稳定
2. 本产品经鉴定无核酶污染
3. 本产品经鉴定显带清晰

本产品文章中的写法：

英文: Dowobio (Shanghai, China)

中文: 上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海