

T4 DNA Polymerase

项目号:T665886

保存条件: -20℃

产品内容

Component	T665886-150U	T665886-750U
T4 DNA Polymerase (3U/μl)	50 μl	250 μl
10×T4 DNA Polymerase Reaction Buffer	1ml	4×1ml

产品简介

本产品是由大肠杆菌表达，表达基因的来源为 T4 嗜菌体。由于 T4 DNA 聚合酶同时具有 5' → 3' DNA 聚合酶活性和 3' → 5' DNA 外切酶活性，可以用于将 5' 端突出末端补平或 3' 端突出末端削平，也可用于通过置换反应进行标记 DNA 探针合成、通过引物伸长法解析 mRNA 转录的起始点、定点突变过程中第二链的合成以及不依赖于连接反应的 PCR 产物克隆等。本 T4 DNA 聚合酶的 3' → 5' DNA 外切酶活性比 Klenow Fragment 要高约 100-1,000 倍，且对于单链 DNA 要比双链 DNA 活性更高。本酶不含 5' → 3' DNA 的外切核酸酶活性，于 70℃ 加热 10 分钟可使其失活，金属离子螯合剂可以抑制其活性。

活性定义

以热变性小牛胸腺 DNA 为模板/引物，在 37℃、pH8.8 条件下，30 分钟内使 10nmol 全核苷酸掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

2U 的本酶和 1 μg 的 Closed circular (RFI) pBR322 DNA 在 37℃ 下反应 16 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。

使用方法

DNA 5' 或 3' 突出末端平滑化：

1. 参考如下表格设置反应体系

试剂	50 μl 反应体系
digested DNA	>0.1pmol
10×T4 DNA Polymerase Reaction Buffer	2 μl
dNTP Mixture (2.5mM each)	0.8 μl
T4 DNA Polymerase (3U/μl)	0.2 μl
ddH ₂ O	up to 20 μl

2. 按上表设置好反应体系后，轻轻混匀后离心沉淀液体。

3. 置于 11℃ 反应 20 分钟，或室温 (20-25℃) 反应 5 分钟。

4. 70℃ 保温 10 分钟终止反应。

其他用途请自行参考 T4 DNA Polymerase 的相关文献资料进行。

注意事项

1. 本酶的最适 pH 为 8-9，在 pH7.5 及 pH9.7 时活性约为 50%。

2. 活性的表达需要 Mg²⁺ 的存在。为了获得最大活性，还需要 SH 基的还原剂存在。

3. 整个反应体系中的离子强度超过 100mM 时活性将被抑制。

4. 本酶易受模板 DNA 高级结构的影响，T4 gene 32 产物可以显著提高聚合酶的活性，而 3' → 5' 的外切核酸酶活性则完全被抑制。