

T4 DNA 聚合酶

T665886

产品简介

本公司生产的 T4 DNA 聚合酶,即 T4 DNA Polymerase 是一种模板依赖的 DNA 聚合酶,可以在结合有引物的单链 DNA 模板上,从 5'→3'方向催化 DNA 合成反应。T4 DNA Polymerase 具有 3'→5'外切酶活性,但不具有 5'→3'外切酶活性。

来源(Source)	本 T4 DNA Polymerase 由大肠杆菌表达,表达基因的来源为 T4 嗜菌体。
外观(Appearance)	无菌液体
保存液 (Storage Buffer)	20mM Tris-HCl(pH8.0), 200mM KCl, 2mM DTT, and 50% glycerol
酶浓度 (Enzyme Concentration)	5U/μL
纯度(Purity)	不含 DNA 内切酶, 不含 RNase。
活性定义(Activity Definition)	37°C 30 分钟时间内, 催化 10nmol 脱氧核糖核苷酸 (dNTPs)掺入到多聚核苷酸中所需的酶量定义为 1 个活性单位。
活性检测条件 (Activity Assay Conditions)	67mM Tris-HCl(pH8.8), 6.7mM MgCl ₂ , 1mM DTT, 16.7mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 0.2mg/ml BSA, 0.033mM of each dNTP, 0.4M Bq/ml [3H]-dTTP, 0.2mM 热变性且经 DNA 酶部分消化过的小牛胸腺 DNA。

组分和说明

T665886	Component	100U	500U	4*500U	Storage
T665886A	T4 DNAPolymerase(5U/μl)	100U	500U	4*500U	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.
T665886B	Reaction Buffer(5X)	0.6ml	3ml	4*3ml	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle.

保存条件

-20°C保存。

产品应用

T4 DNA Polymerase 可用于催化以下反应: DNA 5'或 3'突出末端的平滑化; 通过置换反应进行标记 DNA 探针合成; 定点突变过程中第二链的合成; 不依赖于连接反应的 PCR 产物克隆。

试剂准备

MTT 溶液的配制：用 5mL MTT 溶剂溶解 25mg MTT，配制成 5mg/mL 的 MTT 溶液。在无菌环境下，用 0.22 μ m 过滤后使用，或适当分装后-20°C 避光保存，保存期为半年，在 2~8°C 避光保存 2 周。

产品优势

T4 DNA Polymerase 由于同时具有 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。T4 DNA Polymerase 的 3'→5'DNA 外切酶活性对于单链 DNA 要比双链 DNA 活性更高，即单链 DNA 要比双链 DNA 中的非配对链部分更容易被 T4 DNA Polymerase 所消化。T4 DNA Polymerase 的 3'→5'外切酶活性比 Klenow Fragment 要高约 200 倍。

使用说明

1. DNA 5'或 3'突出末端平滑化：

a. 参考如下表格设置反应体系：

Reaction Buffer(5X)	4 μ l
digested DNA	1 μ g
dNTP Mixture(2.5mM each)	0.8 μ l
补充无核酸酶的去离子水	至 19.8 μ l
T4 DNA Polymerase(5U/ μ l)	0.2 μ l

b. 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。

c. 11°C 孵育 20 分钟，或室温(20-25°C)孵育 5 分钟。

d. 70°C 孵育 10 分钟终止反应。

注意事项

1. 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20°C 保存。
2. 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。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。