

T4 DNA Polymerase

产品编号	产品名称	包装
D7051	T4 DNA Polymerase	50U

产品简介:

- T4 DNA Polymerase, 即T4 DNA聚合酶, 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。
- **特点:** 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。
- **用途:** 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。
- **来源:** 本T4 DNA Polymerase由大肠杆菌表达, 表达基因的来源为T4嗜菌体。
- **活性定义:** 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:** 67mM Tris-HCl (pH8.8), 6.7mM MgCl₂, 1mM DTT, 16.7mM (NH₄)₂SO₄, 0.2mg/ml BSA, 0.033mM of each dNTP, 0.4MBq/ml [³H]-dTTP, 0.2mM 热变性且经DNA酶部分消化过的小牛胸腺DNA。
- **纯度:** 不含DNA内切酶, 不含RNase。
- **酶储存溶液:** 20mM potassium phosphate (pH7.5), 200mM KCl, 2mM DTT, and 50% glycerol。
- **Reaction Buffer (5X):** 335mM Tris-HCl (pH8.8 at 25°C), 33mM MgCl₂, 5mM DTT, 84mM (NH₄)₂SO₄。
- **缓冲液兼容性:** 在碧云天的内切酶反应缓冲液1X O、1X R、1X Y、2X Y中的活性为100%, 在1X B、1X G中的活性为75-100%。
- **失活或抑制:** 70°C加热10分钟可使T4 DNA Polymerase失活。金属离子螯合剂可以抑制T4 DNA Polymerase的活性。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7051-1	T4 DNA Polymerase (5U/μl)	50U
D7051-2	Reaction Buffer (5X)	0.3ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 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。
- 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. 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)	4μl
digested DNA	1μg
dNTP Mixture (2.5mM each)	0.8μl
补充无核酸酶的去离子水	至19.8μl
T4 DNA Polymerase (5U/μl)	0.2μl

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