

版本号: M16B01V1.0



T4 DNA Polymerase (5,000 U/mL)

TEL: 400-999-6126

WEB: www.abclonal.com.cn

目录号: RK20539

规格: 200 U / 10,00 U

浓度: 5,000 U/mL

产品组成:

T4 DNA Polymerase (5,000 U/mL)	RM21302
10X ABuffer B	RM20126

产品说明

T4 DNA Polymerase 在 DNA 模板和引物存在时能按 5'-3' 方向催化 DNA 的合成。与 DNA Polymerase I(*E.coli*)相比, T4 DNA Polymerase 的 3'-5' 核酸外切酶活性更强, 但与之不同的是, 该酶无 5'-3' 核酸外切酶活性。

该酶的 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消化。

产品应用

- DNA 5' 或 3' 突出末端的平滑化
- 通过置换反应进行 DNA 探针标记
- 定点突变实验中二链的合成
- 不依赖于连接反应的 PCR 产物克隆等

产品来源

T4 DNA Polymerase 是在大肠杆菌中表达并分离纯化得到的。

活性定义

1 活性单位(U)指在 37°C 30 min 内, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶性物质所需的酶量。

反应条件

1X ABuffer B, 12°C 反应

1X ABuffer B 组成

10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, pH 7.9 @ 25°C

保存温度: -20°C

酶存储液

100 mM KPO₄, 1 mM DTT, 50% Glycerol, pH 6.5 @ 25°C

在 ABclonal 反应缓冲液中的活性

ABuffer A	ABuffer B	ABuffer C	ABuffer S
60%	100%	100%	100%

热失活: 75°C 加热 20 min

理论分子量: 104 kD

5'-3' 核酸外切酶活性: 无

3'-5' 核酸外切酶活性: 有

链置换活性: 无

错配率: 约 1×10^{-6} 碱基

操作说明

➤ 使用 T4 DNA Polymerase 进行突出末端平滑化 (补平 5' 粘性末端或外切 3' 粘性末端成为平末端) 的操作步骤

1. 将 DNA 溶解到反应缓冲液中, 并补加终浓度为 100 μM 的 dNTPs, 使最终反应缓冲液浓度为 1X。
2. 按每微克 DNA 向体系中加入 1 U T4 DNA Polymerase, 充分混匀。
3. 置于 15°C 反应 15 min。
4. 加入终浓度为 10 mM 的 EDTA 或 75°C 加热 20 min 以终止反应。

注意事项

- 温度过高、酶量过多、dNTPs 不足或反应时间过长, 都会因其 3'-5' 外切酶活性产生 5' 粘性末端扩增产物。
- T4 DNA Polymerase 在 Cut A / B / S、ABuffer A / B / S 或 T4 DNA 连接酶反应缓冲液中均有活性, 但在 ABuffer B 缓

冲液中活性最佳。若要达到最佳的反应效果，当反应缓冲液无 BSA 时可以补充。

- 当 T4 DNA Polymerase 用于不同的实验时，参考特异性反应所需反应温度和反应体系补加 dNTPs 量等。

质量控制

- ◆ SDS-PAGE 检测蛋白纯度大于 95%。
- ◆ 无核酸酶和 RNA 酶活性。
- ◆ PCR 检测无宿主基因组残留。