



T4 DNA Polymerase

目录号：CW2672S (150 U)

CW2672M (750 U)

保存条件：-20°C。

产品内容

| Component | CW2672S 150 U | CW2672M 750 U |
|--------------------------------------|------------------|------------------|
| T4 DNA Polymerase (3U/μL) | 50 μL | 250 μL |
| 10×T4 DNA Polymerase Reaction Buffer | 1 mL | 4×1 mL |

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°C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°C、pH8.8条件下，30分钟内使10 nmol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

2 U的本酶和1 μg的Closed circular (RFI) pBR322 DNA在37°C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 | 20 μ L反应体系 |
|---|------------------|
| digested DNA | >0.1 pmol |
| 10 \times T4 DNA Polymerase Reaction Buffer | 2 μ L |
| dNTP Mixture (2.5 mM each) | 0.8 μ L |
| T4 DNA Polymerase (3 U/ μ L) | 0.2 μ L |
| ddH ₂ O | up to 20 μ L |

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 $^{\circ}$ C反应20分钟，或室温（20-25 $^{\circ}$ C）反应5分钟。

4. 70 $^{\circ}$ C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100 mM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。