

## M5 DNA Polishing kit DNA 末端平滑化 试剂盒使用说明书

产品	单位	货号
M5 DNA Polishing kit	20T	MF300-01

### 【储存条件】

低温运输，-20℃以下恒温保存

### 【产品简介】

M5 DNA Polishing Kit 利用 Pfu DNA Polymerase 不具有末端转移酶活性，但具有 5'-3'端 DNA 聚合酶的活性和 3'-5'端外切酶活性（即校读活性）的特点，可以将含有 3'-端突出 A 碱基的 PCR 产物和限制性内切酶消化获得的粘性 DNA 的末端补平，从而获得平末端 DNA 片段，以便有效地连接入平末端 DNA 克隆载体中。本产品操作简便快捷，30 分钟之内完成反应，反应结束无需添加终止液或加热失活，亦不需纯化，直接用于连接反应。试剂盒另提供一由 Taq DNA Polymerase 催化反应的 800 bp PCR 产物作为阳性对照（Control Insert），用于检测试剂盒各组分的性能。

### 【产品组份】

M5 DNA Polishing Enzyme	20 $\mu$ l
10×DNA Polishing Buffer	0.2 ml
2.5 mM dNTPs	25 $\mu$ l
M5 Control Insert (40 ng/ $\mu$ l)	30 $\mu$ l

### 【应用范围】

1. 切除由 Taq、Tth、VentR 等耐热 DNA 聚合酶催化产生的 PCR 产物的 3'-末端突出 A 碱基，便于与带有 5'-磷酸的平端载体进行连接（若与去磷酸化平端载体连接，需要对补平的 DNA 片段进行磷酸化处理）；
2. 补平限制性内切酶催化获得的 5'-突出粘性末端；
3. 消除限制性内切酶催化获得的 3'-突出粘性末端。

### 【操作步骤】

1. 电泳检测 PCR 产物或酶切产物的特异性和浓度，单一条带可过柱纯化或酚/仿抽提纯化，多余条带应通过切胶回收纯化以去除。推荐使用我公司的 M5 PCR&DNA Fragment Purification Kit (Cat. No. MF030-01) 或 M5 Gel Extraction Kit (Cat. No. MF029-01)。

2. 按以下反应体系配补平反应液：

组分	样品	阳性对照
目的 DNA 片段	10-500 ng	-
M5 Control Insert	-	5 $\mu$ l
10×DNA Polishing Buffer	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l
2.5 mM dNTP mix	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l
M5 DNA Polishing Enzyme	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 10 $\mu$ l	up to 20 $\mu$ l

3. 混匀后短暂离心；
4. 72℃温浴 20 分钟；
5. 冷却至 25℃以下后直接用于连接反应或于-20℃保存备用。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。