

M5 T4 DNA Polymerase

T4 DNA 聚合酶使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 T4 DNA Polymerase	150U	MF320-01
M5 T4 DNA Polymerase	750U	MF320-05

【储存条件】

-20℃

【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℃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℃、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℃下反应 16 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。

【产品组分】

	MF320-01	MF320-05
T4 DNA Polymerase (3U/μl)	50ul	250ul
10×T4 DNA Polymerase Reaction Buffer	1ml	4x1ml

【重要注意事项】

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。

【操作流程】**DNA 5'或 3'突出末端平滑化:**

1. 参考如下表格设置反应体系:

digested DNA	>0.1 pmol
10×T4 DNA Polymerase Reaction Buffer	2 μ l
dNTP Mixture (2.5mM each)	0.8 μ l
T4 DNA Polymerase (3U/ 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°C 反应 20 分钟, 或室温 (20-25°C) 反应 5 分钟。
4. 70°C 保温 10 分钟终止反应。

其他用途请参考 T4 DNA Polymerase 的相关文献资料进行。

**【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。