



T4 DNA聚合酶

货号: S10126

储存条件: -20℃

有效期: 12个月

01/ 产品描述

T4 DNA 聚合酶具有 5'→3'的 DNA 聚合酶活性, 能够在拥有模板和引物的情况下, 催化沿 5'→3'方向 DNA 的合成。本酶还拥有单链 DNA 特异性的 3'→5' 的外切核酸酶活性, 该活性比 Klenow 片段强 100-1000 倍, 适用于 3'突出端的切平。和 DNA 聚合酶 I 不同, 本酶不具有 5'→3'外切核酸酶的活性。

02/ 产品用途

- 1) DNA 3'突出末端的削平;
- 2) DNA 5'突出端的补平;
- 3) 利用较强的 3'→5'外切核酸酶活性, 通过置换合成从 DNA 的 3'末端进行标记;
- 4) 基因定点突变过程中第二条链的合成;
- 5) 不依赖于连接反应的 PCR 产物克隆, 如 LIC 载体和插入片段的处理;
- 6) 通过引物延伸法解析 mRNA 转录的起始点。

03/ 活性定义

在 37℃条件下, 30 分钟内能使 10 nmol 的 dNTPs 渗入反应成为酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位。

04/ 质量控制

经多次柱纯化, SDS-PAGE 胶检测仅可见清晰单一的目的条带, PCR 方法检测无大肠杆菌 DNA 残留, 无核酸内、外切酶污染。

05/ 产品包装

产品组成	S10126-01A 规格: 50U
T4 DNA Polymerase(5 U/μl)	10 μl
10×T4 DNA Polymerase Buffer	1ml

06/ 热失活



70 °C, 10 分钟。

07/ 注意事项

- 1) 使用时将酶置于冰上操作, 使用完毕后-20 °C保存。
- 2) 需要 Mg²⁺存在才能使酶发挥活性, 金属离子螯合剂可抑制酶的活性。
- 3) 反应体系中离子强度超过 100 mM 时, 活性将被抑制。
- 4) 易受模板 DNA 高级结构影响, T4 噬菌体基因 32 编码蛋白可以显著提高聚合酶活性, 但 3'→5'外切核酸酶活性则完全被抑制。

08/ 应用案例

DNA 3'突出末端的平滑化, 操作步骤如下:

- 1) 将试剂溶化后, 在冰上配制如下反应体系:

模 板 D N A	0.1-4μg
10×T4 Polymerase Buffer	1μl
dNTPs(10 mM)	0.2 μl
ddH ₂ O	补齐至10μl

- 2) 70 °C反应 5 分钟, 防止 DNA 末端退火, 然后置于 37 °C水浴锅中。
- 3) 加入 0.2 μl T4 DNA 聚合酶, 轻轻混匀, 保温 5 分钟。
- 4) 用涡旋仪振荡搅拌可使酶失活, 如果进行连接反应, 最好立即进行。如果不立即进行, 应立即进行苯酚/氯仿处理, 乙醇沉淀后-20 °C保存。