

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		200 U	1000 U
T4 DNA Polymerase (5,000 U/mL)	RM21302	40μL	200μL
10X Buffer CutB	RM20105	1.25 mL	1.25 mL X 2

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

10X Buffer CutB, 12°C 反应

1X Buffer CutB

50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 0.1 mg/ml rHSA, 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

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

注意事项

1. 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。
2. 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 1X Buffer CutB 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。
3. 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。