

产品说明

T4 DNA 聚合酶是来源于 T4 噬菌体的 DNA 聚合酶，又名 T4 gp43，分子量为 104kDa，在 T4 噬菌体 DNA 复制中负责先导链和滞后链 5'→3'方向的脱氧核糖核酸合成。T4 DNA polymerase 的聚合酶活性强于 DNA 聚合酶 I，不具有 5'-3' 核酸外切酶活性。本 T4 DNA polymerase(exo-)为通过点突变 D219A 改造，使其 3'-5' 外切核酸酶活性大大降低，但保留了完整的聚合酶活性。

本公司 T4 DNA polymerase 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

单位定义

一个活力单位即在 37℃条件下，30 分钟内催化 10 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

活性测定条件

1×T4 DNA polymerase (exo-)Buffer: 20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 0.5mM DTT, 0.1mg/ml BSA (pH 7.9 @ 25°C), 37°C 温育

浓度：5U/μl

保存条件：-20℃可保存 2 年，避免反复冻融。

特点

- 无链置换活性
- 无 5'-3'外切酶活性，不能进行切口平移
- 3'-5'外切酶活性极大地降低
- 热失活：75℃ for 20 min

应用

- 缝隙填充(无缺口平移活性)
- 去除 3'突出单链或补平 5'突出单链，形成平末端
- 生成无缝克隆中的 5'突出端，实现基因和载体的互补配对

产品包装规格及组成

Component	AE0502A	AE0502B
T4 DNA polymerase(exo-)	200U	1kU
10×T4 DNA polymerase (exo-)Buffer	0.2ml	1.0ml
0.1% BSA (1mg/ml)	0.2ml	1.0ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶保存液

20 mM Tris-HCl, 200 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 5mM DTT, 50% Glycerol, pH 7.5。

注意事项

- 适用于凹陷单链区聚合补平反应（聚合酶反应）的缓冲液包括：AM Buffer A-D、A1-D1、T4 DNA 连接酶反应缓冲液。
- 鉴于 AM Buffer B2 是此酶最优 Buffer，当使用不包含 BSA 的缓冲液时，建议补充 BSA。
- Activity in AM Buffers: AM Buffer A: 60%；AM Buffer B、C、D: 100%。
- 离子强度超过 100 mM 时活性将被抑制，SH 基的还原剂促进活性。
- 活性易受模板 DNA 高级结构影响，T4 gene 32（T4 SSB）蛋白可以显著提高聚合酶活性。

相关产品

AE1904: T4 gene 32 (T4 SSB)

应用实例

1.补平 5'突出单链，形成平末端

1) 按下表配制反应体系

反应组分	ul
10×Buffer	2
2mM dNTP	2
底物: 3'突出或 5'突出 DNA	100ng-1μg
T4 DNA polymerase (5U/μl)	1
0.1%BSA	2
H ₂ O	Xul
总体积	20

2) 37℃×30min 反应，

3) 75℃×15min 失活酶，

按需进行后续实验。

警告: 本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。