

## 产品说明

T4 DNA polymerase 是来自于 T4 噬菌体的 DNA 聚合酶，分子量为 104kDa，可以催化 5'→3' 方向的脱氧核糖核酸合成，需要模板和引物的存在。该酶具有 3'→5' 核酸外切酶活性，且活性比 *E.coli* DNA polymerase I 的 Klenow fragment 高 100-1000 倍。该酶不具有 5'→3' 核酸外切酶活性。

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

1 单位指在温度为 37°C，30min 内将 10nmol dNTP 掺入酸不溶性物质所需的酶量。

## 活性测定条件

1× T4 DNA Polymerase Buffer: 33 mM Tris-acetate pH7.9, 66 mM KAc, 10 mM Mg(Ac)<sub>2</sub>, 0.5 mM DTT, 0.1mg/ml BSA。

浓度：5U/μl

保存条件：-20°C 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
- 合成错误率~ 1×10<sup>-6</sup> bases
- 热失活：75°C 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	AE0501A	AE0501B
T4 DNA polymerase	200U	1kU
10× T4 DNA polymerase 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 MgCl<sub>2</sub>, 5mM DTT, 50% Glycerol, pH 7.5。

## 注意事项

- 由于该酶具有很强的 3'→5' 核酸外切酶活性，提高反应温度、增加酶量、没有加入 dNTP 或反应时间过长都可能造成 DNA 末端碱基被切除形成 3' 端凹陷。
- 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。
- 适用于突出单链区水解削平反应（3' 外切酶反应）的缓冲液包括：AM Buffer A、B、D、A1、B1、D1、T4 DNA 连接酶反应缓冲液；不建议使用 AM Buffer C 和 C1。
- 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 高级结构的影响，T4 gene 32 (T4 SSB) 蛋白可以显著提高聚合酶活性，完全抑制 3' → 5' 外切核酸酶活性。

## 相关产品

AE1904: T4 gene 32 (T4 SSB)

## 应用实例

### 1. 去除 3' 突出单链或补平 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 <sub>2</sub> O	Xul
总体积	20

2) 37°C × 30min 反应，

3) 75°C × 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。