



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

T4 DNA Polymerase

产品编号	产品名称	包装
D7052S	T4 DNA Polymerase	150U
D7052M	T4 DNA Polymerase	750U
D7052L	T4 DNA Polymerase	3kU

产品简介:

- 碧云天生产的T4 DNA Polymerase, 即T4 DNA聚合酶, 是一种模板依赖的DNA聚合酶, 可以在单链DNA模板和与其配对的引物存在的条件下, 催化5'→3'方向的DNA合成。T4 DNA Polymerase具有3'→5'外切酶活性, 但不具有5'→3'外切酶活性。
- T4 DNA Polymerase具有比DNA聚合酶I更强的3'→5'核酸外切酶活性, 因此该酶是高保真的DNA聚合酶; 与大肠杆菌DNA聚合酶I不同的是, T4 DNA聚合酶不具有5'→3'核酸外切酶活性。
- T4 DNA Polymerase由于同时具有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。T4 DNA Polymerase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T4 DNA Polymerase所消化。T4 DNA Polymerase的3'→5'外切酶活性比Klenow Fragment要高约上百倍。
- 碧云天生产的T4 DNA Polymerase催化5'端突出末端补平的效果请参考图1。

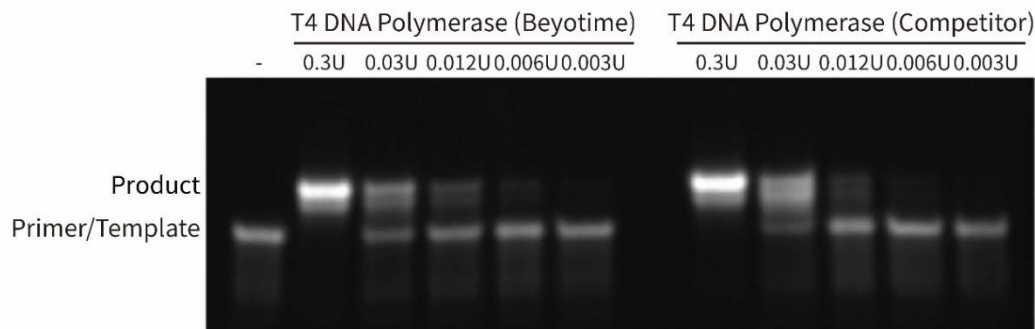


图1. 碧云天生产的T4 DNA Polymerase催化5'端突出末端补平的效果图。使用本产品或N公司(Competitor)的T4 DNA Polymerase, 在20μl反应体系中加入图中指定量的本产品或N公司的T4 DNA Polymerase, 12°C孵育15min进行反应, 反应完毕后冰浴3-5min, 75°C孵育20min以终止反应。取5μl反应产物, 加入1μl 6X DNA Loading Buffer, 然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。180V电泳60min, 之后用D0130 NA-Red (EB升级换代产品, 2000X)室温染色15min, 观察实验结果。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。反应体系(20μl): 10mM Tris-HCl (pH7.9 at 25°C), 50mM NaCl, 10mM MgCl₂, 1mM DTT, 125μM dNTP Mix, 0.5μM Template/Primer (Template:5'-ATACATAGATACATAGACTGGCCGTCGTTTAC-3'; Primer:5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'); Primer和Template按照D0251产品说明书中推荐的程序进行退火反应, 之后以Primer/Template退火产物为底物, 进行5'端突出末端的补平。

- **用途:** DNA 5'或3'突出末端的平滑化和平端克隆; 通过置换反应进行标记DNA探针合成; 定点突变过程中第二链的合成; 不依赖于连接反应的PCR产物克隆; 通过引物延伸法分析mRNA转录的起始点。
- **来源:** T4 DNA聚合酶由大肠杆菌表达纯化而来, 表达基因为T4噬菌体基因43。
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme that will incorporate 10nmol dNTP into acid insoluble material in 30 minutes at 37°C.
- **纯度:** 不含DNA内切酶, 不含RNase。
- **酶储存液:** 100mM potassium phosphate (pH6.5), 1mM DTT, 50%甘油。
- **10X Reaction Buffer:** 100mM Tris-HCl (pH7.9 at 25°C), 500mM NaCl, 100mM MgCl₂, 10mM DTT。
- **失活或抑制:** 75°C加热20min可使T4 DNA聚合酶充分失活; 金属离子螯合剂可以抑制T4 DNA聚合酶的活性。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7052S-1	T4 DNA Polymerase (3U/μl)	50μl
D7052S-2	10X T4 DNA Polymerase Reaction Buffer	300μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7052M-1	T4 DNA Polymerase (3U/μl)	250μl
D7052M-2	10X T4 DNA Polymerase Reaction Buffer	1.5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7052L-1	T4 DNA Polymerase (3U/μl)	1ml
D7052L-2	10X T4 DNA Polymerase Reaction Buffer	6ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存。

注意事项：

- 由于该酶具有3'→5'核酸外切酶的活性，反应温度的提高、过量酶的使用、没有加入dNTP或反应时间过长都可能造成DNA 3'末端碱基被切除而形成凹端。
- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. DNA 5'或3'突出末端平滑化。

a. Template/Primer杂合双链的退火：

将单链DNA Template和Primer等摩尔数混合，推荐的终浓度为10μM，90°C孵育1分钟，然后通过梯度降温至25°C退火形成Primer/Template杂交双链。推荐使用碧云天生产的D0251 Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)，并按照该产品使用说明进行退火反应。退火后形成的双链可以在-20°C保存。

b. 参考下表在冰浴上设置如下反应体系：

Reagent	Volume	Final Concentration
Nuclease-Free Water	(16.67-x)μl	-
5' and/or 3' overhang dsDNA	xμl	0.5μM or 0.05μg/μl
T4 DNA Polymerase Reaction Buffer (10X)	2μl	1X
dNTP Mix (2.5mM each)	1μl	125μM
T4 DNA Polymerase (3U/μl)	0.33μl	0.05U/μl
Total Volume	20μl	-

注：如果同时进行多个反应，可以把上表中除5' and/or 3' overhang dsDNA之外的所有溶液和酶预混合，然后再分装到各反应管。如果是普通的双链DNA末端酶切后的补平和打平，可以使用上表中的推荐酶量；如果是用于较长的DNA片段的合成，推荐把酶量加大约3倍左右。

- c. 按上表设置好反应体系后，轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用Vortex在最低速度轻轻混匀)，随后离心沉淀液体。
- d. 反应条件：12°C孵育15分钟或室温(25°C)孵育5分钟。
- e. 终止反应：75°C孵育20分钟或加入终浓度为10mM的EDTA以终止反应。

2. 其他用途请自行参考T4 DNA Polymerase的相关文献资料进行。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1ml
D7006	T4 DNA Ligase	40,000U
D7008	T4 DNA Ligase	200,000U
D7012	DNA末端平滑试剂盒	20次
D7035	Klenow Fragment	100U
D7039	Klenow Fragment, Exo-	100U
D7051	T4 DNA Polymerase	50U
D7052S	T4 DNA Polymerase	150U
D7052M	T4 DNA Polymerase	750U
D7052L	T4 DNA Polymerase	3kU
D7096	T4 Polynucleotide Kinase	100U

D7160FT	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-) (试用装)	2000U
D7160S	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	10KU
D7160M	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	50KU
D7160L	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	200KU
D7176S	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	10KU
D7176M	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	50KU
D7176L	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	200KU
D7213S	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	200U
D7213M	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7215S	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	200U
D7215M	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7220	BeyoFusion™ DNA Polymerase	200U
D7221	BeyoFusion™ DNA Polymerase	1000U
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0621S	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	1000U
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	5000U
R0632S	T4 RNA Ligase 2 (dsRNA Ligase)	1000U
R0635S	T4 RNA Ligase 2, truncated	5kU
R0635M	T4 RNA Ligase 2, truncated	20kU
R0635L	T4 RNA Ligase 2, truncated	100kU
R0700S	小RNA 3'接头(5'腺苷化, 3'封闭)及连接试剂盒	20次
R0702S	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	1μg
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	5μg
R0716S	5' DNA Adenylation Kit	10次
R0716M	5' DNA Adenylation Kit	50次
R7090FT	Thermostable RNase H	50U
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U

Version 2020.12.08