

# T4 DNA Polymerase

Code No. 2040A

包装量: 100 U  
浓度: 5 U/ $\mu$ l

## 附带试剂:

10X T4 DNA Polymerase Buffer 1 ml  
0.1% BSA 1 ml

## 制品说明:

在模板及引物存在的条件下, 催化与模板互补的脱氧核苷酸依次选择性地连接在引物的3' -OH末端上的反应。本酶还具有单链DNA特异性的3'  $\rightarrow$ 5' 外切核酸酶活性, 该活性比Klenow Fragment强100~1,000倍。本酶没有5'  $\rightarrow$ 3' 的外切核酸酶活性。

## 酶贮存溶液:

200 mM Potassium Phosphate (pH6.5)  
1 mM DTT  
50% Glycerol

保存:  $-20^{\circ}\text{C}$

## 起源:

*Escherichia coli* carrying the plasmid containing phage T4 DNA polymerase gene.

## 活性定义:

以活化 Poly(dA-dT) DNA 为模板/引物, 在  $37^{\circ}\text{C}$ 、pH8.8 条件下, 30 分钟内使 10 nmol 的 dATP 和 dTTP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量, 定义为 1 个活性单位(U)。

## 活性定义反应液:

67 mM Tris-HCl, pH8.8  
6.7 mM  $\text{MgCl}_2$   
16.6 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
1 mM DTT  
6.7  $\mu\text{M}$  EDTA  
0.0167% BSA  
7  $\mu\text{g/ml}$  活化 Poly(dA-dT)  
330  $\mu\text{M}$  each dATP, dTTP  
8  $\mu\text{Ci/ml}$  [ $^3\text{H}$ ] dTTP

## 质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

[https://catalog.takara-bio.com.jp/search/doc\\_index.php](https://catalog.takara-bio.com.jp/search/doc_index.php)。

## 用途:

1. 利用较强的 3'  $\rightarrow$ 5' 的外切核酸酶活性, 通过置换合成从 DNA 片段的 3' 末端进行标记<sup>3)</sup>。
2. DNA 末端的平滑化<sup>4)</sup>。
3. 通过引物延伸法解析 mRNA 转录的起始点<sup>5)</sup>。

## 使用注意:

1. 本酶的最适 pH 为 8-9, 在 pH7.5 及 pH9.7 时活性降低 50%。
2. 活性的表达需要  $\text{Mg}^{2+}$  的存在。为了获得较大活性, 还需要 SH 基的还原剂存在<sup>1)</sup>。
3. 整个反应体系中的离子强度超过 100 mM 时活性将被抑制<sup>2)</sup>。
4. 本酶易受模板 DNA 高级结构的影响, T4 gene 32 产物可以显著提高聚合酶活性, 而 3'  $\rightarrow$ 5' 的外切核酸酶活性则完全被抑制。

## 添附Buffer组成 (保存: $-20^{\circ}\text{C}$ ) :

1. 10X T4 DNA Polymerase Buffer  
330 mM Tris-acetate, pH7.9  
660 mM  $\text{CH}_3\text{COOK}$   
100 mM  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Mg}$   
5 mM DTT

## 2. 0.1%BSA

本 buffer 与活性定义所用 buffer 不同, 含有双链 DNA 末端平滑化实验的主要成分。

在 10X 反应缓冲液中直接加入 0.1% BSA 时会产生大量白色沉淀, 因此, 在调制反应液时请按下列顺序添加试剂:

灭菌水  $\rightarrow$  反应缓冲液  $\rightarrow$  0.1% BSA  $\rightarrow$  底物 DNA。

## 使用例:

### DNA 片段的末端平滑化

1. 在微量离心管内配制下列反应液, 全量为 9  $\mu\text{l}$ 。

突出末端 DNA 片段 >0.1 pmol  
10X T4 DNA Polymerase Buffer 1  $\mu\text{l}$   
0.1% BSA 1  $\mu\text{l}$   
1.7 mM dNTP Mixture 1  $\mu\text{l}$   
灭菌水 up to 9  $\mu\text{l}$

2. 为防止 DNA 末端的“退火”(Annealing), 先在  $70^{\circ}\text{C}$  进行 5 分钟保温后, 移入  $37^{\circ}\text{C}$  的恒温槽中。
3. 加入 1  $\mu\text{l}$  的 T4 DNA Polymerase(1 U/ $\mu\text{l}$ : 用 1X 附带缓冲液等进行稀释), 用取样器轻轻混合 (Pipetting), 避免用振荡器剧烈搅拌。
4. 在  $37^{\circ}\text{C}$  保温 5 分钟。
5. 用振荡器剧烈搅拌使酶失活 (用振荡器搅拌后酶几乎全部失活。为了避免过剩反应, 把反应液置于冰中。进行连接反应时, 最好马上进行。如果不立刻进行下一步反应, 应进行苯酚/氯仿处理、乙醇沉淀后在  $-20^{\circ}\text{C}$  下保存。)

## 参考文献:

- 1) Lehman I R. *Methods in Enzymology*. (1974) **29**: 46-53.
- 2) Goulian M, Lucas Z J, and Kornberg A. *J Biol Chem*. (1968) **243**: 627-638.
- 3) Deen K C, Landers T A, and Berninger M. *Anal Biochem*. (1983) **135**: 456-465.
- 4) Wartell R M, and Reznikoff W S. *Gene*. (1980) **9**: 307-319.
- 5) Hu M C T and Davidson N. *Gene*. (1986) **42**: 21-29.

## 注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 [www.takarabio.com](http://www.takarabio.com)。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202306Da