



# T4 DNA Polymerase

## 产品组分

组分	BM0203S 150U	BM0203L 2000U
T4 DNA Polymerase (3U/ $\mu$ L)	50 $\mu$ L	667 $\mu$ L
10 × T4 DNA Polymerase Buffer	200 $\mu$ L	1 ml x 2

**保存条件:** -20°C 保存，避免反复冻融。

**产品概述:** T4 DNA Polymerase，即 T4 DNA 聚合酶，具有 5'→3'DNA 聚合酶活性和 3'→5'外切酶活性。在模板、dNTP 和引物存在的条件下，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，从 5'→3'方向催化 DNA 合成反应。T4 DNA 聚合酶不具有 5'→3'外切酶活性。

## 用途:

- 对有 5'或 3'突出末端的双链 DNA 进行末端平滑化处理，是高通量测序（NGS）文库制备过程中的关键酶，主要用于修复 DNA 片段的末端，将有黏性末端的 DNA 片段转换为适合后续连接的平末端。
- 利用其 3'→5'外切酶活性，通过置换合成对 DNA 片段的 3'末端进行标记。
- 利用其 3'→5'外切酶活性，在载体和插入片段之间创建互补突出端，适用于不依赖连接反应（LIC）的 DNA 片段克隆。

**来源:** 由携带 T4 DNA 聚合酶基因的大肠杆菌菌株表达并纯化得到。

**纯度:** SDS-PAGE 纯度大于 98%。不含 DNase 和 RNase。

**活性单位定义:** 37°C 条件下、30 分钟能使 10 nmol 的 dNTPs 掺入酸不溶物所需的酶量，定义为 1 个活性单位 (U)。

**活性检测条件:** 67 mM Tris-HCl(pH8.8), 6.7 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM DTT, 16.7 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.2 mg/ml BSA, 0.033 mM of each dNTP, 0.4 MBq/ml [<sup>3</sup>H]-dTTP, 0.2 mM 热变性且经 DNA 酶部分消化的小牛胸腺 DNA。

**酶储存液:** 10 mM Tris-HCl, 25 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% glycerol, pH 7.5 @ 25°C。

**10×T4 DNA 聚合酶 Buffer:** 100 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM DTT, pH 7.9 @ 25°C。

**失活或抑制:** 75°C 加热 20 分钟可使酶失活，金属离子螯合剂（如 EDTA）可抑制其活性。

## 使用示例

### 1.DNA 片段末端平滑化

1.1 在微量离心管中，按下表配制反应体系（总体积 20  $\mu$ L）：

组分	用量
突出末端 DNA 片段	1 $\mu$ g
10 × T4 DNA Polymerase Buffer	2 $\mu$ L
2.5 mM dNTPs	0.8 $\mu$ L
补充无核酸酶的去离子水	19.7 $\mu$ L
T4 DNA Polymerase (3 U/ $\mu$ L)	0.3 $\mu$ L

1.2 37°C 反应 5 分钟。

1.3 通过剧烈振荡使酶失活，并立即将反应管置于冰上。若需进行连接反应，建议立即进行下一步。

1.4 若不立即进行后续实验，可加入 EDTA 至终浓度 10 mM, 75°C 加热 20 分钟灭活，或进行苯酚/氯仿抽提和乙醇沉淀处理，最终将 DNA 保存于-20°C。

**2.其他用途请自行参考 T4 DNA 聚合酶的相关文献资料进行。**

## 注意事项

1. 使用时请将酶置于冰上，使用完毕后宜立即放置于-20°C 保存。

2. 本产品仅供专业研究人员进行科学研究使用，**不可用于临床诊断、治疗、食品、药品或任何其他非科研用途**，且必须按规定存放于专业实验场所。