

DNA 末端修复试剂盒

产品组分：

组分	BM1201S 20 次	BM1201L 100 次
End-Repair Emix	25 μ L	125 μ L
10 \times End-Repair Buffer	500 μ L	500 μ L
1 mM dNTPs	100 μ L	500 μ L

保存条件： -20 $^{\circ}$ C 保存。

产品描述：

DNA 末端修复试剂盒能够将带有受损或具有 5'或/和 3'突出末端的双链 DNA，修复为具有 5'磷酸基和 3'-羟基的平末端结构。其作用基于 T4 DNA 聚合酶与 T4 多核苷酸激酶的协同两步反应：首先，T4 DNA 聚合酶利用其 5' \rightarrow 3'聚合酶活性及 3' \rightarrow 5'外切酶活性将末端修平；随后，T4 多核苷酸激酶在末端添加 5'磷酸基团，形成可用于连接的平端 DNA。该试剂盒的推荐 DNA 使用量为 1–5 μ g。

用途：

- 1.用于 DNA 连接：将双链 DNA 完全转化为平末端且 5'磷酸化的 DNA，以便直接用于后续的连接反应。
- 2.用于 NGS 文库构建：是第二代测序（NGS）文库制备中关键的前处理步骤，为后续接头连接提供标准化末端。

酶蛋白来源： 分别从表达重组 T4 DNA 聚合酶和 T4 多核苷酸激酶基因的 *E. coli* 菌株中纯化获得。

保存液： 末端修复酶混合物（End-Repair Emix）以 1 次/ μ L 的浓度提供。保存于 10 mM Tris-HCl，100 mM KCl，0.1 mM EDTA，1 mM DTT，0.1% Triton X-100，50%甘油，pH 7.5@ 25 $^{\circ}$ C。

操作步骤：

1. 将 DNA 纯化，溶解于 TE 缓冲液中。
2. 在 PCR 管中加入以下组分：

成分	用量
纯化的 DNA	1-5 μ g
10 \times End-Repair Buffer	2.5 μ L
1 mM dNTP Mix	2.5 μ L
End-Repair Emix	1 μ L
灭菌水	X μ L
总体积	25 μ L

3 在室温（25 $^{\circ}$ C）下孵育 30 分钟。通过 75 $^{\circ}$ C 加热 20 分钟使末端修复酶失活。

4. 可立即使用 T4 DNA 连接酶进行连接。

注： 由于 T4 多核苷酸激酶能够利用反应中使用的脱氧核苷酸（dATP 和 dTTP）作为磷酸供体，因此不需要 ATP。

注意事项：

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。