

Instrukcja

T4 polimeraza DNA

Stężenie 3 U/μl

nr katalogowy	wielkość
1031-100	100 U
1031-500	500 U

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Specyfikacja

forma	roztwór
stężenie	3 U/μl
definicja jednostki	Jedna jednostka enzymu katalizuje inkorporowanie 10 nmoli deoksyrybonukleotydów po 30 min w temp. 37 °C.
zastosowanie	Stępienie końców dsDNA przez wypełnianie 5' wiszących końców DNA lub trawienie 3' DNA wiszących końców DNA.
	Stępienie produktów PCR zawierających wiszące końce 3'-dA (po amplifikacji z <i>Taq</i> DNA polimerazą).
	Synteza i znakowanie sond DNA przez reakcję wymiany nici.
	Mutageneza miejscowo-specyficzna z użyciem oligonukleotydów .
	Ligacja typu LIC (Ligation-independent cloning) i klonowanie produktów PCR.
pochodzenie	mikroorganizm rekombinowany
bufor do przechowywania	100 mM KPO ₄ , 1 mM DTT, 50% glicerol, pH 6,5 @ 25 °C

Opis

T4 polimeraza DNA to polimeraza zależna od matrycy DNA, posiadająca aktywność polimerazy DNA syntetyzującej DNA od końca 3' startera DNA w kierunku od 5' do 3'. Enzym posiada również aktywność 3'-5' egzonukleazy. T4 DNA polimeraza nie wykazuje aktywności 5'-3' egzonukleazy.

Aktywność 3'-5' egzonukleazy jest znacznie wyższa dla ssDNA w stosunku do dsDNA.

T4 polimeraza DNA jest aktywna w większości buforów używanych w PCR, odwrotnej transkrypcji, buforze do ligacji oraz w większości buforów dla enzymów restrykcyjnych

Skład

	1031-100	1031-500	przechowywanie
T4 polimeraza DNA	35 μl	5 x 35 μl	-20 °C
bufor do T4	220 μl	1 x 1,1 ml	-20 °C
10x bufor reakcyjny: 500 mM NaCl, 100 mM Tris-HCl, 100 mM MgCl ₂ , 1 mg/ml BSA, pH 8,0			

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

- dNTPs
- EDTA (opcjonalnie)
- woda jałowa

Protokół stępienia końców 5'- lub 3'

1. Przygotować następującą mieszaninę:

składnik	ilość
bufor do T4	2 μ l
DNA lub produkt PCR	1 μ g
mieszanina dNTPs, 2 mM każdego	1 μ l (stężenie końcowe 100 μ M)
T4 polimeraza DNA	0,3 μ l (1 U)
woda jałowa	uzupełnić do 20 μ l

Uwaga: na 1 μ g DNA lub produktu PCR należy użyć 1 U T4 polimerazy DNA.

2. Wymieszać, krótko zwirować i inkubować przez **15 min** w **temp. 12 °C** lub przez **5 min** w **temp. pokojowej**.

Uwaga: Nie należy przekraczać zaleconego czasu inkubacji.

3. Zatrzymać reakcję poprzez dodanie **0,6 μ l EDTA** (0,5 M) lub inkubację przez **20 min** w **temp. 75 °C**.
4. Krótko zworteksować i zwirować przez 3-5 s.
5. DNA lub produkt PCR przechowywać w temp. -20 °C do czasu dalszych analiz.



A&A BIOTECHNOLOGY

innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2025-1

