

克
必
隆
系
列

CAT#:60107-20
低温运输, -20°C保存

TIANDZ

粘转平试剂盒

DNA Polishing Kit

使用手册 V1.2

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	<p>本产品利用 Pfu DNA polymerase 所具有 3' 到 5' 的聚合酶活性和 5' 到 3' 外切酶活性, 将 3' 和/或 5' 突出的 DNA 片段转化成平末端, 用于克隆工作。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 简单, 精心优化过的 2 X Polishing Buffer 中含有所需要的所有成分, 不需要单独准备。 2. 适用于任何平末端的 DNA 载体。 														
规格及成分		<table border="1" data-bbox="515 566 1347 819"> <thead> <tr> <th data-bbox="515 566 999 629">成份</th> <th data-bbox="1002 566 1166 629">编号</th> <th data-bbox="1169 566 1347 629">20 次包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="515 633 999 689">2 X Polishing Buffer</td> <td data-bbox="1002 633 1166 689">60107A</td> <td data-bbox="1169 633 1347 689">0.5 mL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="515 694 999 750">Pfu DNA Polymerase (3U/uL)</td> <td data-bbox="1002 694 1166 750">60107B</td> <td data-bbox="1169 694 1347 750">20 ul</td> </tr> <tr> <td data-bbox="515 754 999 819">使用手册</td> <td data-bbox="1002 754 1166 819">60107sc</td> <td data-bbox="1169 754 1347 819">1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	20 次包装	2 X Polishing Buffer	60107A	0.5 mL	Pfu DNA Polymerase (3U/uL)	60107B	20 ul	使用手册	60107sc	1 份	
成份	编号	20 次包装													
2 X Polishing Buffer	60107A	0.5 mL													
Pfu DNA Polymerase (3U/uL)	60107B	20 ul													
使用手册	60107sc	1 份													
运输及保存	低温运输, -20℃保存, 保存期限为一年。														
自备试剂	DNA 片段														
使用方法	<ol style="list-style-type: none"> 1. DNA 片段的准备: <p>无论是来源 Taq, Tth, T7, Klenow 和 Vent 等 DNA 聚合酶合成的 DNA 片段, 还是用限制性内切酶制备的 DNA 片段, 粘转平之前均需要将 DNA 沉淀以便去除反应液中的无关成份。沉淀 DNA 的方法包括经典的盐/纯沉淀法, 离心柱 DNA 吸附法和天泽基因的一管式非醇超快 DNA 沉淀法。</p> 2. 设置粘转平 (Polishing) 反应: <p>在一个干净的离心管中, 分别加入</p> <p>10-500 ng 3' 或 5' 突出的 DNA 片段</p> <p>25 uL 2 X Polishing Buffer</p> <p>1 uL Pfu DNA polymerase</p> <p>补水到 50 uL</p> <p>72℃保温 2 小时。</p> <p>注意: 如果不使用热盖式 PCR 仪器加热, 则需要在反应管中再加入适量液体石蜡以防反应过程中水份蒸发。</p> 3. 反应后处理 <p>粘转平反应后, 样品可以放-20℃长期保存, 也可以直接用于 T4 DNA 连接酶催化的连接反应。对 10 uL 的连接反应体系, 一般需要加入 1-2 uL 粘转平反应液。由于 Pfu DNA polymerase 在连接反应的温度条件下几乎没有</p> 														

活性，所以不必去除。但文献报道，去除后连接效率更高。

相关资料

常见 DNA 聚合酶的粘转平效率

聚合酶	5' 突出的碱基种类				平均 (%)
	A	C	G	T	
Taq	4	10	1	75	22.5
Klenow	12	3	20	67	25.5
T4	89	86	96	91	90.5
Pfu	93	89	93	89	91

----NAR 22:2423, 1994

关联产品

dA-Tailing Kit、dT-Tailing Kit