

平末端 DNA 加 A 试剂盒

货号: T1620

规格: 50T/100T

保存: -20°C保存, 有效期 1 年

产品内容:

	50T	100T
A-Tailing Enzyme	50ul	100ul
10×A-Tailing reaction Buffer	50ul	100ul
ddh ₂ O	1ml	1ml

产品介绍:

保真 PCR 酶利用自身的 3' → 5' 外切酶活性 (pfu DNA Polymerase , PrimeSTAR HS DNA Polymerase 等) 能保证 PCR 产物的保真度, 但扩增的 PCR 产物为不带 A 尾的平末端 DNA 片段, 不能直接 TA 克隆。因此, 平末端 DNA 片段需要进行加 A 后方可 TA 克隆。本试剂盒提供平末端 DNA 片段加 A 所需要的酶和缓冲有, 可直接用于平末端 DNA 片段加 A 反应。

使用说明:

- 1、用 Pfu, Pwo 等具有 3 到 5 外切活性的 DNA 聚合酶扩增得到的 DNA 片段, 必须经过彻底的去残留的酶的处理过程(如酚/氯仿抽提或 Proteinase K 处理), 否则它们将在加 A 反应时, 切除掉加上的 A 尾巴, 干扰反应。可以采取胶回收和酚/氯仿抽提法等常规方法纯化, 最后溶解在水或 TE 中。
- 2、一些限制性内切酶如 EcoR V、Sma I 等酶切产生的 DNA 片段。
- 3、粘端 DNA 用 DNA 聚合酶补平后的片段。
- 4、经纯化后按照下列体系进行加样, 进行加 A 反应。

组分	10ul
平末端 DNA 片段	0.2ug-2ug (1-7ul)
A-Tailing Enzyme	1ul
10×A-Tailing reaction Buffer	1ul
ddH ₂ O	补足体系至 10ul
一般最后加入 A-Tailing Enzyme ,在离心机上微离 3~5 s, 70°C保温 15-30min	

- 5、可直接进行转化, 也可进行产物回收, 放在-20 度保存。