

DNA Polymerase I (*E.coli*)

Code No. 2130A

包装量: 500 U
浓度: 5 U/ μ l

附带试剂:

10X *E.coli* DNA Polymerase I Buffer 1 ml

制品说明:

DNA Polymerase I在模板和引物(DNA或RNA)存在的条件下,以dNTP为底物,沿5'→3'方向合成与模板互补的DNA⁽¹⁾。本酶分子量约为109,000,具有双链特异性的5'→3'外切核酸酶活性以及单链特异性的3'→5'外切核酸酶的活性。本酶是由带有编码*E.coli* DNA Polymerase I基因的大肠杆菌精制而成的。

酶贮存溶液:

50 mM Potassium Phosphate, pH6.5
1 mM DTT
50% Glycerol

保存: -20°C

起源:

Escherichia coli carrying the plasmid which encodes the gene of *Pol* I.

活性定义:

以合成的 Poly d (A-T) DNA 为模板/引物,在 37°C、pH7.4 的条件下,30 分钟内使 10 nmol 的全核苷酸掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位(unit)。

活性定义反应液:

67 mM potassium phosphate, pH7.4
6.7 mM MgCl₂
0.1 mM DTT
20 μ M poly d(A-T)
33 μ M dATP
33 μ M [³H] dTTP

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc.网站中下载:
https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途:

1. 与 DNase I⁽⁴⁾(Code No. 2270A/B)一起使用,进行切口平移(Nick translation)。
2. 通过 Okayama-Berg 法⁽⁵⁾合成 cDNA 的第二条链(0.3 μ g DNA Polymerase I 约为 2.5 U)。

使用注意:

1. 本酶稀释也不失活,但剧烈搅拌会使酶失活。
2. 不含内切酶活性,单独使用不表现切口平移活性。
3. 由于同 DNA 有较强的亲和性,过量使用易发生凝集作用(Aggregation),会使反应不能充分进行。

添附Buffer组成(保存: -20°C):

500 mM Tris-HCl, pH7.8
100 mM MgCl₂
1 mM DTT

*本 buffer 与活性定义所用 buffer 不同,含有切口平移反应的主要成分。

使用例:

切口平移反应

在微量离心管中配制下列反应液,全量为 40 μ l。

Template DNA	0.05~1 μ g
10X <i>E.coli</i> DNA Polymerase I Buffer	4 μ l
dNTP Mixture (0.1 mM dATP,dGTP,dTTP)	4 μ l
111 TBq/mmol [γ - ³² P]dCTP	10 μ l
(3000 Ci/mmol)	(3.7 MBq/100 μ Ci)
DNA Polymerase I (5 U/ μ l)	0.8 μ l
DNase I (0.0004 U/ μ l)	1 μ l
灭菌水	up to 40 μ l

↓
15°C反应 2 小时。

↓
70°C保温 5~10 分钟。

↓
取适量作为杂交反应的探针使用(若有必要,可通过凝胶过滤或乙醇沉淀除去未掺入的 dCTP)。

参考文献:

- 1) Richardson C C, Schildkraut C L, Aposhian H V, and Kornberg A. *J Biol Chem*. (1964) **239**: 222-231.
- 2) Murray N E and Kelley W S. *Molec Gen Genet*. (1979) **175**: 77-87.
- 3) Kelley W S and Stump K H. *J Biol Chem*. (1979)**254**: 3206-3210.
- 4) Rigby P W J, Dickmann M, Rhodes C, and Berg P. *J Mol Biol*. (1977) **113**: 237-251.
- 5) Okayama H and Berg P. *Molec Cell Biol*. (1982) **2**: 161-170.

注意

本产品仅供科学研究使用,不能用于人、动物的医疗或诊断程序,不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
未经Takara Bio Inc.书面许可或批准,不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品,或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。如果您需要其他用途的许可授权,请联络我们,或访问我们网站 www.takarabio.com。
您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。
所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日生物技术(北京)有限公司翻译制作,最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品,您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202107Da