

产品说明

E. coli DNA polymerase I 是大肠杆菌的一种 DNA 依赖性 DNA 聚合酶，除了 5'→3' DNA 聚合酶活性，还具有 3'→5' 和 5'→3' 核酸外切酶活性。5'→3' 核酸外切酶活性可以消化正在延伸的 DNA 链下游的 5'核苷酸，进行缺口平移反应。

本公司 *E. coli* DNA polymerase I 是在大肠杆菌中重组表达，并经多步纯化的重组大肠杆菌 DNA polymerase I。

活性定义

1 单位指在反应温度 37°C, 1× *E. coli* DNA polymerase I 反应缓冲体系的条件下, 30 min 将 10 nmol dNTP 掺入酸不溶性物质所需的酶量。

活性测定条件

50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 0.1 mM DTT pH7.8@25°C, 37°C 温育。

浓度：5U/μl

保存条件：-20°C 保存

特点

- 具有 3'→5' 和 5'→3' 核酸外切酶活性
- 热失活 75°C×20min

适用范围

- DNA 的缺口平移，获得高比活性探针
- 第二链 cDNA 合成

产品包装规格及组成

Component	AE0601A	AE0601B
<i>E. coli</i> DNA polymerase I	500U	2.5kU
10× <i>E. coli</i> DNA polymerase I Buffer	0.5ml	1.0ml×2

质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

酶贮存缓冲液

25 mM Tris-HCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C。

注意事项

- 具有 5'→3' 外切酶活性，不能用于链置换 DNA 合成反应。
- *E. coli* DNA 聚合酶 I 在本公司四种 Buffer A-D 中都有活性。

相关产品

AE2081: DNase I (RNase-free)

应用实例

1. 切口平移

1) 按下表配制反应体系

反应组分	ul
10× Buffer	4
dNTP (0.1mM dATP,dGTP,dTTP)	4
*[γ - 32P]dCTP (3000 Ci/mmol)	10
! 底物: 模板 DNA	50ng-1 μ g
<i>E. coli</i> DNA polymerase I (5U/ μ l)	1
! DNase I (0.0004 U/ μ l)	1
H ₂ O	Variable
总体积	40

2) 37°C × 120min 反应,

3) 70°C × 15min 保温, 失活酶

4) 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) 按需进行后续实验。

*也可以用其它标记的 (例如 cy3 荧光标记的 dCTP) 的单一 dNTP 作为标记底物。

! 用来在模板 DNA 中间形成缺口, 作为聚合酶切口平移的反应位点。若模板 DNA 本身已经带有切口或缺口, 则不用添加 DNase I。

警告: 本产品仅限科研实验使用, 临床应用安全性和有效性未鉴定, 不可用于医疗临床诊断。