

# DNA Polymerase I

## 使用说明书

货号/规格: E1021-A/500 U, E1021-B/2,500 U

浓度: 10 U/ $\mu$ L

### 产品简介

本品是具有模板依赖性的 DNA 聚合酶, 能够加速 DNA 从 5'→3' 的合成。本品同时具有 3→5' 的外切酶 (校正) 活性, 5'→3' 的外切酶活性以及核酸酶 H 活性。

### 产品组成

组分	E1021-A	E1021-B
DNA Polymerase I	50 $\mu$ L	250 $\mu$ L
10X Polymerase I Buffer	1 mL	1 mL $\times$ 5

### 储存条件

保存于 -20°C。

### 来源

重组 *E. coli* 菌株, 含有来自 *E. coli* 的克隆基因 *polA*。

### 单位定义

一个单位是指在 37°C 下 30 分钟内催化 10nmol 脱氧核糖核苷酸掺入多核苷酸组分所需的酶量。

### 特点

- 掺入经修饰的核苷酸 (如生物素、地高辛或荧光素标记的核苷酸)
- 适用于多种缓冲体系, 包括限制性内切酶、PCR 和 RT 的缓冲液

### 适用范围

- 与 DNase 联用, 通过缺口平移进行 DNA 标记
- 与 RNase H 联用, 合成 cDNA 的第二链

### 抑制与失活

- 抑制剂: 金属整合剂, PPI, Pi (高浓度)。
- 通过在 75°C 加热 10 分钟或加入 EDTA 灭活。

### 使用方法

缺口平移法标记放射性 DNA

① 准备反应体系:

Component	Amount
10X Polymerase I Buffer	2.5 $\mu$ L
Mixture of 3 dNTPs, 1 mM* each (without the labeled dNTP)	1.25 $\mu$ L
$[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{-dNTP}$ , ~110 TBq/mmol (3000 Ci/mmol)	1.85-3.7 MBq (50-100 $\mu$ Ci)
DNase I, RNase-free (#E1018) freshly diluted to 0.002 U/ $\mu$ L**	1 $\mu$ L
DNA Polymerase I	5-15 U
Template DNA	0.25 $\mu$ g
Water, nuclease-free (#P9021)	To 25 $\mu$ L

注意:

\* 要制备 3 个未标记的 dNTP (每个 1mM) 的混合物, 将每个 dNTP 的 1 $\mu$ L 样品 (100mM) 与 97 $\mu$ L 无核酸酶的水混合。储存在 -20°C。

\*\* DNase I, RNase-Free 可用 DNA 聚合酶 I 的 1X 反应缓冲液稀释。

- ② 立即在 15°C 孵育 15-60 min。
- ③ 通过加入 1  $\mu$ L 0.5M EDTA, pH 8.0 终止反应。
- ④ 取一份样品 (1  $\mu$ L) 测定标记掺入的效率。预计 DNA 的比活性至少为 10<sup>8</sup> cpm/ $\mu$ g。
- ⑤ 如果需要, 可以在 Sephadex G-50 或 Bio-Gel P-60 色谱柱上将标记的 DNA 与未掺入的放射性前体分离。

**注意事项**

- DNA 聚合酶 I 接受修饰的核苷酸（例如生物素、地高辛、荧光标记的核苷酸）作为 DNA 合成的底物。
- 反应体积可以按比例放大或缩小，前提是组分（DNA、dNTP、标记的 dNTP）的最终浓度与方案中所示一致。
- 可以使用两个放射性标记的 dNTP 同时制备具有更高比活性的放射性 DNA 探针。在这种情况下，应相应地调整未标记的 dNTP 混合物的组成。

本品仅供科学研究使用。