

Bst DNA Polymerase

(Großes Fragment, *exo*⁻)
(*Bacillus stearothermophilus*)

Bst DNA Polymerase

(Großes Fragment, *exo*⁻)
(*Bacillus stearothermophilus*)

Artikel Nr.	Größe
E1078-01	100 Einheiten
E1078-02	500 Einheiten

Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, das erforderlich ist, um 10 nmol Deoxyribonukleotide in 30 Minuten bei 60°C in die säureunlösliche Form zu überführen.

Lagerbedingungen:

Lagerung bei -20°C

Bst DNA-Polymerase (Großes Fragment, *exo*⁻), ohne Exonuclease-Aktivität, für Reaktionen, in denen ein einzelner DNA-Strang zu ersetzen ist

Beschreibung:

- *Bst* DNA-Polymerase ist ein mäßig thermostabiles Enzym aus *Bacillus stearothermophilus*.
- Ultrareines, rekombinantes Protein.
- Das Enzym repliziert DNA optimal bei 65°C.
- Katalysiert bei Anwesenheit von Magnesium-Ionen die Polymerisierung von Nucleotiden zu Duplex-DNA in 5'→3' Richtung.
- Keine 5'→3' Exonuclease-Tätigkeit, während die Polymerase-Tätigkeit erhalten bleibt (1).
- Breites Tätigkeitsspektrum; kann mesophile Polymerasen ersetzen und DNA bei hohen Temperaturen synthetisieren. Ermöglicht die Amplifikation schwieriger DNA-Abschnitte wie z.B. repetitive Sequenzen, GC-reiche DNA-Abschnitte und problematische Sekundärstrukturen (2, 3).
- Kann bei Temperaturen oberhalb 80°C durch Hitze inaktiviert werden.
- Aktiv über ein breites Spektrum von Pufferbedingungen und Magnesium-Ionenkonzentrationen.
- Verwendet in der isothermischen DNA-Sequenzierung bei erhöhten Reaktionstemperaturen.
- Ideal für DNA-Synthese-Reaktionen, in denen ein einzelner DNA-Strang zu ersetzen ist.
- Enthält Reverse Transkriptase - Aktivität und ermöglicht so RT-Reaktionen bei erhöhten Temperaturen.
- Verwendet zur isothermischen Nukleinsäure-Amplifikation.

Lagerungspuffer (Storage Buffer):

20 mM Kalium-Phosphat (pH 6.8), 1 mM Dithiothreitol und 50 % (v/v) Glycerin.

Reaktionsbedingungen der Qualitätskontrolle:

50 mM Tris-HCl, (pH 8.6 bei 22°C), 10 mM MgCl₂, 1 mg/ml Rinderserum-Albumin, 100 mM KCl, 1 mM Dithiothreitol, je 0.2 mM dCTP, dGTP, dTTP und [α -³²P] dATP, 15 μ g der aktivierten DNA. Inkubation bei 60°C für 30 Minuten in einem Reaktionsvolumen von 50 μ l

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuclease-, Exonuclease-, sowie einzel- und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft.

Literatur:

1. Stenesh, J. und Roe, B.A. (1972) *Biochim. Biophys. Acta.* 272, 156-166.
2. Hugh, G. und Griffin, M. (1994) *PCR Technology*, p.p.228-229.
3. McClary, J. et al. (1991) *J. DNA Sequencing and Mapping*, p.p.173-180.
4. Tomita N. et al. (2008) *Nature Protocols*, p.p. 877-882