

DNA Polymerase I

(*Escherichia coli*)

DNA Polymerase I

(*Escherichia coli*)

| Artikel Nr. | Größe |
|-------------|-----------------|
| E1080-01 | 500 Einheiten |
| E1080-02 | 2 500 Einheiten |

Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um, ausgehend von DNase I aktivierter DNA als Template-Primer, 10 nmol Deoxyribonukleotide in 30 Minuten bei 60°C in die säureunlösliche Form zu überführen.

Lagerbedingungen:

Lagerung bei -20°C

DNA-Polymerase I ist eine mesophile, DNA-abhängige DNA-Polymerase mit inhärenter 3'→5' und 5'→3' Exonuklease-Aktivität.

Beschreibung:

- Besitzt 5'→3' Polymerase-Aktivität
- Besitzt 5'→3' Exonuklease-Tätigkeit, die aktiv nur auf Duplex-DNA wirkt.
- Besitzt 3'→5' Exonuklease-Aktivität, die in erster Linie aktiv auf einzelsträngige DNA wirkt (1).
- Ultrareines rekombinantes Enzym.
- Geeignet, um DNA für radioaktive Untersuchungen durch Einzelstrangsnitt-Translation (nick translation) (2) und zufälliges Priming (random priming) (3) zu markieren.
- Geeignet für die Endmarkierung von DNA-Molekülen mit 3'- und 5'- überstehenden oder stumpfen Enden (protruding and blunt ends).

Lagerungspuffer (Storage Buffer):

50 mM Kalium-Phosphat (pH 7.0), 0.25 mM Dithiothreitol und 50 % (v/v) Glycerin.

Reaktionsbedingungen der Qualitätskontrolle:

67 mM Kalium-Phosphat (pH 7.4), 6.7mM MgCl₂, 1 mM Dithiothreitol, 0.033 mM jeweils von dCTP, dGTP, dTTP und [α -³²P] dATP, 4.5 µg aktivierte DNA. Inkubation bei 37°C für 30 Minuten in einem Reaktionsvolumen von 100 µl.

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease-Aktivität geprüft. Typische Präparationen sind zu mehr als 95 % rein, wie aufgrund von SDS Polyacrylamid-Gelelektrophorese beurteilt werden kann.

Literatur:

1. Lehman, I.R. (1981) *Enzymes* 14, 15-37.
2. Rigby, P.W.J., Diekmann, M., Rhodes, C. und Berg, P. (1977) *J. Mol. Biol.* 113, 237-251.
3. Hartman, C.P. und Robussay, D. (1981) *Gene Amplification and Analysis* (Chirikjian, J.G. und Papas, T.S., Hrsg.) 2, 17-39, Elsevier/North Holland, New York.