



## Bsu DNA Polymerase, Large Fragment

产品编号	产品名称	包装
R32163-200U	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment	200U
R32163-1000U	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment	1000U

### 产品简介:

源叶生产的 Bsu DNA Polymerase, Large Fragment, 即枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*, Bsu) DNA 聚合酶大片段, 具有 5'→3'DNA 聚合酶活性, 不具有 3'→5'和 5'→3'的核酸外切酶活性。Bsu DNA 聚合酶大片段具有链置换 (strand displacement) 活性, 常用于重组酶聚合酶扩增 (Recombinase Polymerase Amplification, RPA), 其等温扩增(isothermal amplification)的温度通常为 37° C。

Bsu DNA Polymerase, Large Fragment 是将枯草芽孢杆菌 DNA 聚合酶 I 的 5'→3'核酸外切酶结构域(1-296 aa)删除后表达剩余蛋白序列而获得的。该酶保留了枯草芽孢杆菌 DNA 聚合酶 I 的 5'→3'聚合酶活性, 但是缺失了 5'→3'核酸外切酶和 3'→5'核酸外切酶活性。

重组酶聚合酶扩增(Recombinase Polymerase Amplification, RPA)主要包括以下几个组分: 重组酶(recombinase) T4 UvsX, 重组酶载入因子(recombinase loading factor) T4 UvsY, Bsu DNA 聚合酶大片段以及单链 DNA 结合蛋白 (single-strand binding protein)T4 gp32。在 ATP 存在的情况下, UvsX 与引物相结合, 扫描 DNA 模板, 寻找到与引物配对的核酸序列, 一旦引物被定位到了 DNA 模板的同源序列, ATP 水解产生 ADP, ADP 与 UvsX 的结合导致 UvsX 被 gp32 取代而从 DNA 模板上解离下来, gp32 作为单链结合蛋白可以稳定被置换的 DNA 链的结构, Bsu DNA 聚合酶大片段因引物与 DNA 模板的配对而进行引物的延伸和模板的扩增。重组酶载入因子 T4 UvsY 和拥挤试剂(crowding reagent) Carbowax20M 的加入有利于 UvsX 与引物的结合, 即有利于重组酶 UvsX 的载入。

源叶生产的 Bsu DNA Polymerase, Large Fragment 催化延伸 DNA 模板的效果请参考图 1。

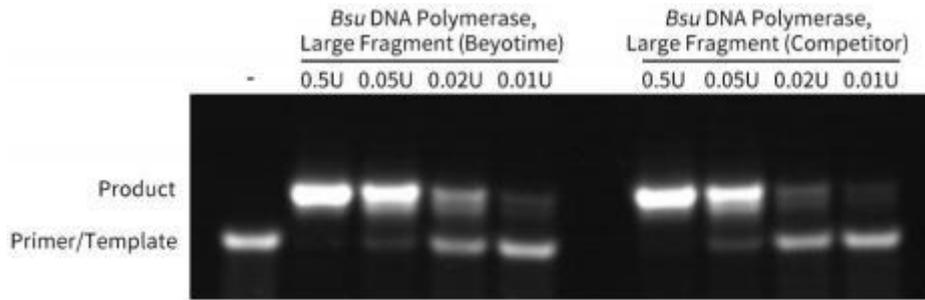


图 1. 源叶生产的 BsuDNAPolymerase, Large Fragment 催化延伸 DNA 模板的效果图。使用本产品或竞争(Competitor) N 公司的 BsuDNAPolymerase, Large Fragment, 在 20 $\mu$ l 反应体系中加入图中指定量的本产品或 N 公司的 BsuDNAPolymerase, Large Fragment, 37 $^{\circ}$ C 孵育 15min 进行反应。反应完毕后冰浴 3-5min, 75 $^{\circ}$ C 孵育 20min 以终止反应。取出 5  $\mu$ l 反应液, 加入 1  $\mu$ l 6X DNALoading Buffer, 然后进行 15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(180V 电泳 60min); 之后用 Gel-Red 室温染色 15min, 然后进行拍照记录。如图所示, 本产品与 N 公司的产品相比, 具有类似的催化效果。反应体系(20  $\mu$ l): 10mMTris-HCl (pH7.9 at 25 $^{\circ}$ C), 50mM NaCl, 10mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM DTT, 125 $\mu$ M dNTP Mix, 0.5 $\mu$ M Template/Primer (Template:5'-ATACATAGATACATAGACTGGCCGTCGTTTTAC-3 / Primer: 5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'); Primer 和 Template 按照产品说明书中推荐的程序进行退火反应, 之后以 Primer/Template 退火产物为底物, 进行 DNA 模板的延伸。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异, 图中所示结果仅供参考。

**用途:** RPA 法等温扩增; RPA 链置换的 DNA 合成; 随机引物法标记; cDNA 第二条链合成; 单个 dA 的加尾。

**来源:** 大肠杆菌表达枯草芽孢杆菌 DNA 聚合酶 I 基因(297-880 aa)获得的重组蛋白。

**活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme that will incorporate 10 nmol dNTPs into acid insoluble material in 30 minutes at 37 $^{\circ}$ C.

**纯度:** 不含 DNA 内切酶和外切酶, 不含核糖核酸酶。

**酶储存液:** 25 mM Tris-HCl (pH7.4), 50 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1mM EDTA, 50% (v/v) Glycerol.

**10XReaction Buffer:** 100 mM Tris-HCl (pH7.9 at 25 $^{\circ}$ C), 500 mM NaCl, 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM DTT.



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

失活或抑制: 75°C 孵育 20min。

**包装清单:**

产品编号	产品名称	包装
R32163-200U	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment (5U/ $\mu$ l)	40 $\mu$ l
	10X Bsu Reaction Buffer	100 $\mu$ l
—	说明书	1 份

产品编号	产品名称	包装
R32163-1000U	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment (5U/ $\mu$ l)	200 $\mu$ l
	10X Bsu Reaction Buffer	500 $\mu$ l
—	说明书	1 份

**保存条件:**

-20°C 保存, 60 个月有效。

**注意事项:**

由于缺乏 3'→5'核酸外切酶活性, Bsu DNA Polymerase, Large Fragment 不能切除 3'未配对的突出末端, 因而不适用于产生平末端。

Bsu DNA Polymerase, Large Fragment 25°C 时仍保留 50% 的 DNA 聚合酶活性, 是相同温度下 Klenow 片段(3'→5' exo-)活力的两倍。

本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**使用说明:**

**1. Primer/Template 杂合双链的退火。**

将单链 Primer 和 DNA Template 等摩尔数混合, 推荐的终浓度为 10 $\mu$ M, 90°C 孵育 1min, 然后通过梯度降温至 25°C 退火形成 Primer/Template 杂交双链。推荐使用碧云天生产的 D0251 Annealing Buffer for DNA Oligos (5X), 并按照该产品使用说明进行退火反应。退火后的双链可以直接用于后续实验, 或在 -20°C 保存备用。

**2. 对于 DNA 模板链的延伸, 参考下表在冰浴中配制反应体系**



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

Reagent	Volume	Final Concentration
Nuclease-Free Water	15 $\mu$ l	-
Annealed Primer/template (10 $\mu$ M each)	1 $\mu$ l	0.5 $\mu$ M each
Bsu Reaction Buffer (10X)	2 $\mu$ l	1X
dNTP Mix (2.5mM each)	1 $\mu$ l	125 $\mu$ M
Bsu DNA Polymerase, Large Fragment (5U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l	0.25U/ $\mu$ l
Total Volume	20 $\mu$ l	-

注: 如果同时进行多个反应, 可把上表中除 Annealed Primer/template 之外的所有组分预先混合, 然后再分装到各反应管。

3. 应条件: 37°C 孵育适当时间。参考图 1, 其中的孵育时间为 15min。该酶延伸速率预计和常规 DNA 聚合酶类似, 大约 1000bp/分钟。具体使用时需要适当摸索孵育时间, 以确定比较合适的延伸时间。

4. 终止反应: 75°C 孵育 20min 以终止反应。

