**Bsu DNA Polymerase (Large Fragment)使用说明书**

**（产品货号：EM103）**

描述:Bsu DNA Polymerase (Large Fragment)保留了Bacillus subtilis DNA聚合酶I的5'→3' DNA聚合酶活性，但是缺失了5'→3' 核酸外切酶结构域；该大片段自身缺乏3'→5'外切酶活性，是具有链置换活性的DNA恒温扩增聚合酶。

**产品组分与规格**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 货号 | 组分 | 250 U | 2,500 U |
| EM103 | Bsu DNA Polymerase (Large Fragment),5 U/μL | 50 μL | 500 μL |
| 10×Buffer 4.0 | 1 mL | 5 mL |
|  MgCl2(100 mM) | 1 mL | 5 mL |

**储存液及反应液**

储存液：10 mM Tris-HCl，50 mM KCl，1 mM DTT，0.1 % Tween 20，0.1 mg/ml BSA，0.1mM EDTA，50 %甘油， pH 7.5 @ 25℃。

反应液（10×Buffer 4.0）：100 mM Tris-HCl pH 7.9 @ 25℃，500 mM NaCl，100 mM MgCl2，10 mM DTT。

**酶活定义**

一个酶活单位（U）定义为：在37℃条件下，30分钟内使10 nmol的dNTP掺入酸不溶性沉淀物所需的酶量定义为一个活性单位。

**应用**

主要应用于ERA，也可用于RPA和SIBA；RT-PCR和cDNA合成。

**储存**

-20±5℃，可保存1年，避免反复冻融。

**使用方法**

1. 按以下组分配制反应体系

|  |  |
| --- | --- |
| 组分 | 每管加样量/μL |
| Plasmid DNA | 4 |
| Bsu DNA Polymerase (Large Fragment) | 1-4 |
| 10×Buffer 4.0 | 5 |
| Random9 (100μM) | 2 |
| dNTP (10 mM each) | 2 |
| ddH2O | Up 50 |
| 注：Plasmid DNA单次反应总量为100 ng |

1. 混匀后95℃ 5min，冰上放置5min，加入不同剂量Bsu DNA聚合酶（1-4μl），分别在25℃和37℃孵育3 h。

**注：**

1. 由于缺乏3'→5'外切酶活性，Bsu DNA Polymerase (Large Fragment)不能切除3'未配对的突出末端，因而不适用于生成平末端。
2. 25℃时Bsu DNA Polymerase (Large Fragment)保留50%的活性，是同温度下Klenow片段（3'→5'exo-）的两倍。

