



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

Klenow Fragment

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|-----------------|------|
| D7035 | Klenow Fragment | 100U |

产品简介:

- Klenow Fragment, 又称Klenow 片段, 是大肠杆菌聚合酶I (E.coli. DNA polymerase I)的大片段(Large Fragment)。Klenow Fragment保留了DNA聚合酶I的5'→3' 聚合酶活性和3'→5'外切酶活性, 但缺少完整的Klenow酶的5'→3' 外切酶活性。Klenow Fragment的3'→5'外切酶活性保证了其合成DNA时的准确性(proofreading)。
- **特点:** 对于5'突出或3'突出的粘末端都可以催化产生平末端, 用于后续的平端连接。
- **用途:** 双链DNA 5'突出(5' overhang)末端的补平(fill-in); 双链DNA 3'突出(3' overhang)的打平(也称削平); 5'突出末端的标记; 随机引物法进行DNA标记; Sanger双脱氧法进行DNA测序; cDNA第二链的合成或定点突变反应第二链的合成。
- **来源:** 由大肠杆菌表达, 表达基因的来源为 polA 基因片段。
- **分子量:** 约68kDa(单体)。
- **活性定义:** 37°C 30分钟时间内, 催化10nmol脱氧核糖核苷酸(dNTPs)掺入到多聚核苷酸中所需的酶量定义为1个活性单位。
- **酶活性检测条件:** 67mM potassium phosphate (pH7.4), 6.7mM MgCl₂, 1mM 2-mercaptoethanol, 0.033mM dATP, 0.033mM dTTP, 0.4MBq/ml [³H]-dTTP, 62.5μg/ml poly(dA-dT)•poly(dA-dT)。
- **纯度:** 不含DNA内切酶, 不含RNase。
- **酶储存溶液:** 25mM Tris-HCl (pH7.5), 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% (v/v) glycerol。
- **Reaction Buffer (10X):** 500mM Tris-HCl (pH8.0 at 25°C), 50mM MgCl₂, 10mM DTT。
- **缓冲液兼容性:** 在碧云天的内切酶反应缓冲液1X O、1X R、1X Y、2X Y中的活性为100%, 在1X B、1X G中的活性为100%; 在碧云天的Taq、Pfu DNA polymerase和M-MuLV反应缓冲液中的活性为100%。
- **失活或抑制:** 75°C加热10分钟或加入适量EDTA均可导致Klenow Fragment失活。金属离子螯合剂, 无机焦磷酸盐(PPI), 大剂量的无机磷酸盐(Pi)均对Klenow Fragment有抑制作用。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|---------|-------------------------|-------|
| D7035-1 | Klenow Fragment (2U/μl) | 100U |
| D7035-2 | Reaction Buffer (10X) | 0.3ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 酶使用时宜放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 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. 双链DNA 5'突出(5' overhang)末端的补平:

a. 参考如下表格设置反应体系:

| | |
|---------------------------|------------------|
| Digested DNA | 10~15μl(0.1~4μg) |
| Reaction Buffer (10X) | 2μl |
| dNTP Mixture (2.5mM each) | 0.4μl |
| Klenow Fragment | 0.5~2μl (1~4U) |
| 补充无核酸酶的去离子水 | 至20μl |

- 按上表设置好反应体系后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体。
- 37°C 孵育 10 分钟。
- 75°C孵育10分钟终止反应。

2. 双链DNA 5'突出(5'overhang)末端的标记:

a. 参考如下表格设置反应体系:

| | |
|---|------------------------------|
| Digested DNA | 10~15 μ l(0.1~4 μ g) |
| Reaction Buffer (10X) | 2 μ l |
| [α - ³² P]-dNTP, ~15-30 TBq/mmol(400-800Ci/mmol) | 0.74 MBq(20 μ Ci) |
| 或 [α - ³² P]-dNTP, ~110 TBq/mmol(3000Ci/mmol) | 2.96 MBq(80 μ Ci) |
| 3 dNTP Mixture (2.5mM each , without the labeled dNTP) | 2 μ l |
| Klenow Fragment | 0.5 μ l (1U) |
| 补充无核酸酶的去离子水 | 至20 μ l |

b. 按上述体系配好之后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体。

c. 30°C 孵育 15 分钟。

d. 75°C孵育10分钟终止反应。

3. 其他用途可以参考上述用途或适当的文献资料进行。

使用本产品的文献:

1. Shi AP, Fan ZM, Ma KW, Jiang YF, Wang L, Zhang KW, Fu SB, Xu N, Zhang ZR..Isolation and characterization of adult mammary stem cells from breast cancer-adjacent tissues.Oncol Lett . 2017 Sep;14(3):2894-2902.

Version 2021.09.01