

版本号: M16B01V1.0



TEL: 400-999-6126

WEB: www.abclonal.com.cn

Klenow Fragment 3'→5' exo⁻

目录号: RK20526

规格: 200 U/1,000 U/5,000 U

浓度: 5,000 U/mL

产品组成:

Klenow Fragment 3'→5' exo ⁻	RM20516
10X ABuffer B	RM20126

产品说明

Klenow 片段(3'→5' exo⁻)是 N-末端截短型的 DNA 聚合酶 I, 保留 DNA 聚合酶活性, 缺失 5'-3' 外切酶活性, 同时因 D355A 和 E357A 突变而缺失 3'-5' 外切酶活性。

Klenow 片段(3'→5' exo⁻)聚合酶适用于随机引物标记、Sanger 法 DNA 测序、cDNA 的二链合成和突变实验的二链合成。

产品来源

携带截短 323 个密码子的 *E.coli* polA 基因(D355A, E357A)在大肠杆菌中诱导重组表达并将产物分离纯化。

活性定义

1 活性单位(U)指在 37°C 30 min 内, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶性物质所需的酶量。

反应条件

1X ABuffer B, 37°C 反应

1X ABuffer B 组成

10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, pH 7.9 @ 25°C

保存温度: -20°C

酶存储液

25 mM Tris-HCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.4 @25°C

热失活

75°C 加热 20 min

理论分子量

68 kD

5'-3' 核酸外切酶活性: 无

3'-5' 核酸外切酶活性: 无

出错率: 约 100 X 10⁻⁶ 碱基

操作说明

Klenow 片段(3'→5' exo⁻)加 A 操作步骤如下:

准备材料: 1-5 μg 平末端 DNA* (100-1000 bp)

*, 注: PCR 或其他酶制备的平末端 DNA, 需要纯化以去除平末端酶。

1. 按下表加入反应组分到无菌离心管中, 混匀。

组分	加入量
ddH ₂ O	to 50 μL
10X ABuffer B	5 μL
纯化的平末端 DNA	1-5 μg
dATP (10 mM)	0.5 μL (终浓度 0.1 mM)
Klenow 片段 (3'→5' exo ⁻)	3 μL (15 U)

2. 置于 PCR 仪中 37°C 反应 30 min。

3. 使用柱提法纯化上述反应完成的 DNA。

注意事项

- Klenow 片段 (3'→5' exo⁻)因缺失 3'-5' 外切酶活性, 不适用于形成平末端产物的实验。
- 补充 dNTPs 后, Klenow 片段(3'→5' exo⁻)在 1X ABuffer A / B / C / S 中都有活性。
- 当 Klenow 片段(3'→5' exo⁻)用于 Sanger 法 DNA 测序时, 推荐在 5 μL 反应体系中加入 1 U 的 Klenow 片段酶量。

质量控制

- ◆ SDS-PAGE 检测蛋白纯度大于 95%。
- ◆ 无核酸外切酶、核酸酶和 RNA 酶活性。
- ◆ PCR 检测无宿主基因组残留。