

DNA Polymerase I Klenow Fragment

DNA聚合酶I Klenow大片段

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LE201

浓度: 5000 units/ml

保存: 在-18℃及其以下温度下保存一年。

产品说明

DNA聚合酶I, 大片段 (Klenow片段) 是*E. coli* DNA聚合酶I的蛋白酶水解产物, 具有DNA聚合酶活性和3'→5'核酸外切酶活性, 但缺失了5'→3'核酸外切酶活性。Klenow片段既保留了全酶的高保真性, 又不会降解DNA-5'末端。

适用范围

双链DNA 5'突出(5'overhang)末端的补平、双链DNA 3'突出(3'overhang)的切除。

产品组成

Component	LE201-01	LE201-02
DNA Polymerase I Klenow Fragment	500 units	5000 units
10× Klenow Fragment Buffer	0.25 ml	2.5 ml
dNTPs (2.5 mM each)	0.25 ml	2.5 ml

活性定义

37℃、30分钟内使10 nmol的dNTP掺入酸不可溶性物质中所需要的酶量, 定义为1个活性单位 (U)。

酶贮存液

25 mM Tris-HCl (pH 7.4), 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol。

反应体系

在50 μl反应体系中, 37℃, 1小时将1 μg超螺旋十字形结构的质粒酶切成90%以上线性DNA所需的酶量定义为1个活性单位 (U)。

Component	Volume
DNA Polymerase I Klenow Fragment	1 μl
10× Klenow Fragment Buffer	2 μl
dsDNA	≤ 1 μg
dNTPs (2.5 mM each)	0.4 μl
Nuclease-free Water	Variable
Total	20 μl

反应条件

37℃孵育10分钟。

形成平末端的反应条件

1. 将DNA溶解在1 × DNA Polymerase I Klenow Fragment Reaction Buffer中, 每种 dNTP 补充添加 33 μM。
2. 每μg DNA中加入1 U的Klenow片段。
3. 25℃孵育15分钟。
4. 加入终浓度为10 nM的EDTA或者75℃热激20分钟来终止反应。

注意事项

- 当本产品用于Sanger双脱氧法测序中时, 推荐5 ul反应体系中加入1 U酶量。
- 由于该酶的3'→5'核酸外切酶活性, 高温反应、过多的酶量、未补充添加dNTP以及长时间反应可能会导致凹陷末端。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202209

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

