

Klenow Fragment (exo-)

Cat. No.: A4000 Size: 1000U Store at: -20°C



描述: Klenow 片段 (3' → 5' exo-) 是 DNA 聚合酶 I 的 N 末端截短物, 它保留了 DNA 聚合酶活性, 但失去了 5' → 3' 核酸外切酶活性。该酶进一步经突变 (D355A, E357A) 去除了其 3' → 5' 的核酸外切酶活性。因此该 DNA 聚合酶无任何外切酶活性, 仅包含了 DNA 聚合酶活性, 广泛用于标记探针制备、cDNA 第二条链的合成等建库试验。

组分

名称	1000U
Klenow Fragment(exo-) (10 U/μl)	100 μl
10xKlenow Buffer	1 ml

单位定义

一个活力单位即在 37°C 条件下, 30 分钟内催化 10 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。该酶保存液中含有 50% 甘油。

10xKlenow Buffer: 500 mM Tris-HCl (pH 8.0 at 25 °C), 50 mM MgCl₂, 10 mM DTT. 该酶兼容 PCR Buffer 和内切酶 Buffer。

应用:

- (1) 用随机引物制备探针
- (2) 随机引物法标记
- (3) cDNA 第二条链的合成
- (4) 该酶不能用于产物平端不齐

失活:

75°C, 20min 失活。

储存: -20°C 可保存 3 年。

随机引物生物素标记反应

1. 按以下组分配制反应液

10xKlenow Buffer	5 μl
模板 DNA	0.1~2 μg
dATP dCTP dGTP (2 mM each)	0.5 μl
Biotin-dUTP or dATP(2 mM)	0.5 μl
random hexamer(125 μM)	10 μl
ddH ₂ O	Up to 50 ul

95°C 5min 冰上放置 5min。

2. 聚合反应

加入 0.5 μl Klenow Fragment(exo-), 混合均匀。

37°C 反应 15min, 75°C 20min 失活。