

## Klenow Fragment(3'→5' exo-)

产品套装编号: **A0201A**

产品内容	产品编号	包装规格
Klenow Fragment (3'→5' exo-)	A02010A	200 μl (5U/μl)
10×Klenow Buffer	A02011A	1 ml

储存条件: -20℃保存

### ■ 产品概述:

Klenow Fragment (3'→5' exo-)是大肠杆菌DNA聚合酶I的蛋白水解产物, 具有5'→3'的DNA聚合酶活性, 但缺乏单链特异3'-5'外切酶活性、双链特异性5'-3'外切酶活性, 用于补齐凹陷的双链DNA的3'端、随机引物标记和测序等分子生物学实验。

### ■ 来源:

从带有编码DNA聚合酶I基因的*E.coli* polA菌株中提取, 并利用基因重组技术, 使用*E.coli*表达和纯化Klenow片段(3'→5' exo-)。

### ■ 活性单位:

在37℃条件下, 30分钟内能使10 nmol 的dNTPs掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为1个活性单位。

### ■ 纯度 (品质检测):

以考马斯蓝染色SDS-PAGE检测纯度大于90%, 并无核酸内切酶、外切酶及RNase污染。

### ■ 储存条件:

0.1 M KPO<sub>4</sub> (pH7.0), 1 mM DTT和50%甘油。贮存于-20℃。

### ■ 热失活:

75℃ 20分钟失活。

### ■ 应用:

1. 随机引物探针的合成:

DNA模板95℃变性5分钟, 立刻放置冰上冷却。

混合下面各种反应物:

反应物	用量
DNA模板	10 ng—2 μg DNA
dNTP	dATP、dCTP、dGTP 各100μM; dTTP 65 μM
标记底物	标记的dUTP 35 μM
10×随机引物(1.5 mg/ml)	1 μl
10×Klenow Buffer	2 μl
Klenow Fragment	2 U
ddH <sub>2</sub> O	终体积20 μl

37℃温浴60分钟，  
终止反应：加入2 μl 0.2 M EDTA，或者75℃温浴20分钟。

2. 合成第二条cDNA链：  
混合下面各种反应物：

反应物	用量
DNA模板	10 ng-2 μg DNA
10×随机引物(1.5 mg/ml)	1 μl
10×Buffer	4 μl

DNA模板95℃变性5分钟，室温冷却5分钟；  
再加入下面的混合物：

反应物	用量
10×dNTP	4 μl
Klenow Fragment	5 U
ddH <sub>2</sub> O	终体积40 μl

37℃温浴3小时。

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。