

CAT#:131015-200  
低温运输、-20℃保存

**TIANDZ**

## Klenow 片段(Klenow DNA 聚合酶)

Klenow Fragment (Klenow DNA Polymerase)

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

产品及特点

Klenow 片段是大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 的蛋白水解产物。它保留了 DNA

	<p>聚合酶活性，具有 3' → 5' 外切酶活性，但不具有 5' → 3' 外切核酸酶活性。可以在 DNA 模板和引物存在的条件下，选择性地催化底物 dNTP 沿 5' → 3' 方向合成与模板互补的 DNA。本产品是重组表达得到，它具体有下列用途：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 双链 DNA 5' 突出末端的平滑化。</li> <li>2. 用随机引物制备探针。</li> <li>3. 随机引物标记法。</li> <li>4. 寡核苷酸定向诱变 (Oligonucleotide directed mutagenesis) 中双链 DNA 的合成。</li> <li>5. 双脱氧法 DNA 序列测定 (Sanger 法)。</li> </ol>														
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="494 705 1396 958"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>编号</th> <th>200U 塑料袋包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Klenow 片段 (5U/uL)</td> <td>131015A</td> <td>20 uL</td> </tr> <tr> <td>10×Klenow Fragment Buffer</td> <td>131015B</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td colspan="2">1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>活性定义：</b> 以合成的 Poly d(A-T) DNA 为模板/引物，在 37℃、pH7.4 的条件下，30 分钟内使 10 nmol 的全核苷酸掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位(unit)。</p> <p><b>活性定义反应液：</b> 67mM 磷酸钾、pH7.4、6.7 mM MgCl<sub>2</sub>、0.1mM DTT、20uM DNA 模板、33 uM dATP, 33uM [<sup>3</sup>H] dTTP</p> <p><b>纯度：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 10 units 的本产品和 1 μg 的超螺旋 pBR322 DNA(Form I)在 37℃下反应 1 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。</li> <li>2. SDS-PAGE: &gt;95%。</li> </ol> <p><b>酶储存 buffer：</b> 50 mM 磷酸钾，pH 6.5，1 mM DTT，50%甘油</p> <p><b>10×Klenow Fragment Buffer：</b> 100 mM Tris-HCl, pH7.5、70 mM MgCl<sub>2</sub>、1 mM DTT。注意：本 buffer 可用于标记或末端平化等常规实验，与活性定义所用的 buffer 组成不同。</p>			成 份	编号	200U 塑料袋包装	Klenow 片段 (5U/uL)	131015A	20 uL	10×Klenow Fragment Buffer	131015B	1 mL	使用手册	1 份	
成 份	编号	200U 塑料袋包装													
Klenow 片段 (5U/uL)	131015A	20 uL													
10×Klenow Fragment Buffer	131015B	1 mL													
使用手册	1 份														
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>低温运输，-20℃保存，有效期一年。</p>														
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>模板 DNA；引物</p>														
<p><b>使用方法</b></p>	<p><b>使用举例：随机引物的同位素标记反应</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在微量离心管中配制下列反应液</li> </ol> <table border="1" data-bbox="635 2063 1257 2179"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>用 量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>模板 DNA</td> <td>25 ng</td> </tr> </tbody> </table>			成 份	用 量	模板 DNA	25 ng								
成 份	用 量														
模板 DNA	25 ng														

	<table border="1"> <tr> <td>随机引物(6-9 mer)( 1 nmol/<math>\mu</math>l)</td> <td>2 uL</td> </tr> <tr> <td>补超纯水到</td> <td>14 uL</td> </tr> </table>	随机引物(6-9 mer)( 1 nmol/ $\mu$ l)	2 uL	补超纯水到	14 uL
随机引物(6-9 mer)( 1 nmol/ $\mu$ l)	2 uL				
补超纯水到	14 uL				
	<p>2. 95°C保温 3 分钟。然后冰中急冷 5 分钟。</p> <p>3. 加入 2.5 <math>\mu</math>l 10<math>\times</math>Klenow Fragment Buffer。</p> <p>4. 加入 2.5 <math>\mu</math>l dNTP (0.2 mM dATP,dGTP,dTTP)。</p> <p>5. 加入 5 <math>\mu</math>l 111 TBq/mmol [<math>\alpha</math>-<sup>32</sup>P].dCTP (3000 Ci/mmol)(1.85 MBq, 50 <math>\mu</math>Ci)</p> <p>6. 加入 1 <math>\mu</math>l 本产品，反应液共 25 <math>\mu</math>l。</p> <p>7. 37°C反应 3 小时。</p> <p>65°C加热 5 分钟。反应液可直接作为探针使用。如有必要，可以通过用北京天恩泽柱式探针纯化试剂盒除去未反应的标记的 dCTP。</p>				
<b>注意事项</b>	<p>1. 本酶有高度稳定性，稀释时不失活，但剧烈搅拌会失活。</p> <p>2. 由于不含有 5' <math>\rightarrow</math> 3' 的外切核酸酶活性，因此没有切口平移活性。</p> <p>3. 可用于双链 DNA 末端以及缺口 (Gap) 的修复。</p> <p>4. 与 T4 DNA Polymerase 相比，对模板高级结构的抵抗性能较好。</p> <p>5. 由于对 DNA 的亲合性较强，过量使用易发生凝集作用 (Aggregation) 从而抑制反应进行。</p> <p>6. 若用于 5' 突出末端的修饰时，补平后有时会多加一个碱基。</p> <p>7. 与 DNA Polymerase I 相同，ddNTPs 的掺入不受底物抑制。</p>				
<b>关联产品</b>	Klenow 片段 (3-5 exo) (CAT#: 131235-200)				