Klenow Fragment

REF: EG26109S

储存条件

-20℃保存 2 年

产品组成

组分	规格
Klenow Fragment (5 U/μl)	40 μl
10× Cut Buffer G	1.25 ml

产品简介

Klenow Fragment，是大肠杆菌聚合酶 I (*E.coli* DNA polymerase I) 的大片段 (Large Fragment)，在大肠杆菌中表达纯化后获得。与大肠杆菌聚合酶 I 相比，Klenow Fragment 缺失了 5'→3' 外切酶活性，但保留了 DNA 聚合酶 I 的 5'→3' 聚合酶活性和 3'→5' 外切酶活性。因此，Klenow Fragment 保留了聚合酶 I 的聚合保真度的同时不会降解 DNA 的 5' 末端，适用于 Sanger 法 DNA 测序、cDNA 的第二链合成等。

活性定义

1 单位是指在 37℃条件下，30 分钟能使 10 nmol 的 dNTP 掺入酸不溶物所需的酶量。

产品应用

1. Sanger 法 DNA 测序；
2. 双链 DNA 5' 突出末端的补平；
3. 双链 DNA 3' 突出末端的削平；
4. 使用随机引物进行 DNA 标记；
5. 寡核苷酸定向诱变中双链 DNA 的合成；
6. cDNA 第二链的合成或定点突变反应第二链的合成等。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37℃下，在 20 μl 反应体系中将 5 U Klenow Fragment 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37℃下，在 20 μl 反应体系中将 5 U Klenow Fragment 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性

37℃下，在 10 μl 反应体系中将 5 U Klenow Fragment 与 500 ng RNA 共同温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，超过 90% 的 RNA 保持完整。

宿主 DNA 残留

采用中国药典 2025 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法，本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 1 拷贝 /5 U。

使用方法

5' 突出末端补平

①在冰上配制以下反应体系：

试剂	使用量
DNA	0.1~4 μg
10× Cut Buffer G	2 μl
dNTP (2.5 mM)	0.4 μl
Klenow Fragment (5 U/μl)	0.2~1 μl[a]
ddH_2O	Up to 20 μl

a. 酶量过高会抑制反应。

② 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀，然后瞬时离心收集挂壁液滴；
③ 37℃孵育 10 min；
④ 75℃孵育 10 min 终止反应。

注意事项

1. 由于酶的 3'→5' 核酸外切酶活性，升高反应温度、加入过量的酶、未加入 dNTP 或反应时间过长皆可导致凹陷末端的形成。
2. 剧烈振荡会使酶失去活性。
3. 金属离子螯合剂、无机焦磷酸盐、高浓度的无机磷酸盐对酶有抑制作用。
4. Klenow Fragment 在限制性内切酶、PCR 和 RT 缓冲液中均有活性。
5. 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

江苏愚公生物科技有限公司 / 江苏百时美生物科技有限公司
Yugong Biotech Co., Ltd. / BestEnzymes Biotech Co., Ltd
Tel: 0518-8558 6628 • E-mail:support@best-enzymes.com • www.best-enzymes.com
最终解释权所有 © 江苏愚公生物科技有限公司，保留一切权利
ISO 13485 高新技术企业
愚公生物微信公众号 愚公生物科研小助手 愚公生物微信视频号