Klenow Fragment, exo-

REF: EG26110S

储存条件

-20℃保存 2 年

产品组成

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

产品简介

Klenow Fragment, exo-，是在大肠杆菌聚合酶 I 大片段 (Klenow Fragment) 基础上进一步突变去除了 3'→5' 外切酶活性的突变体。与大肠杆菌聚合酶 I 相比，Klenow Fragment, exo- 仅保留了 5'→3' 聚合酶活性，缺失 5'→3' 外切酶活性和 3'→5' 外切酶活性。此外，Klenow Fragment, exo- 具有一定的链置换活性。Klenow Fragment, exo- 适用于随机引物法进行 DNA 标记、Sanger 法 DNA 测序、cDNA 的第二链合成等。由于 Klenow Fragment, exo- 缺少外切酶活性，其在末端补平时经常会在 3' 末端额外加上 1 个或多个核苷酸，因此不能用于产生平末端，而用于连接反应。

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. 使用随机引物进行 DNA 标记；
3. 用随机引物制备探针；
4. 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, exo- 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, exo- 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, exo- 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

末端加 A

①在冰上配制以下反应体系：

试剂	使用量
DNA	1~5 μg (100~1000 bp)
10× Cut Buffer G	5 μl
dATP (10 mM)	0.5 μl
Klenow Fragment, exo- (5 U/μl)	3 μl
ddH_2O	Up to 50 μl

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 30 min；
④ 75℃孵育 10 min 终止反应。

注意事项

1. Klenow Fragment, exo- 缺少外切酶活性，不能用于生成平末端的实验。
2. 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。
3. Klenow Fragment, exo- 在限制性内切酶、PCR 和 RT 缓冲液中均有活性。
4. 本产品仅作科学研究使用，不得用于其它用途。
5. 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