

Klenow片段 (3'→5' exo-)

Klenow Fragment (3'→5' exo-)

Code No.AG12528

包装量:	200 U (5 U/μl)
保存温度:	-20°C

➤ 产品概述

Klenow Fragment (3'→5' exo-) 是大肠杆菌 DNA 聚合酶的大片段，经突变 (D355A、E357A) 失去了核酸外切酶活性。

本产品具有 5'→3' DNA 聚合酶活性，同时缺乏 5'→3' 核酸外切酶活性和 3'→5' 核酸外切酶活性，具有一定的链置换活性。本产品在被平末端时，常以非模板定向的方式在 3' 末端添加一个或更多个额外核苷酸，因此不推荐其用于 DNA 末端平滑化反应。

➤ 保存及运输

保存温度：-20°C 保存

运输温度：干冰运输或者 -20°C 冰袋运输

➤ 活性定义

37°C，30 min 内使 10 nmol 全核苷酸聚合成为 dsDNA 所需要的酶量，定义为 1 个活性单位 (U)。

➤ 产品组成

Klenow Fragment (3'→5' exo-) (5U/ul)	40 μl
10X Klenow Fragment (3'→5' exo-) Reaction Buffer	250 μl

➤ 注意事项

1. Klenow Fragment (3'→5' exo-) 使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀（避免起泡），切勿剧烈振荡，避免其失活；使用时建议放置于冰上；使用完毕后建议立即置于 -20°C 保存。
2. 10X Klenow Fragment (3'→5' exo-) Reaction Buffer 使用前请于冰上充分融化，短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀（避免起泡），然后再进行使用。

➤ 应用

1. 通过加入带标记的 dNTP，在聚合反应中对双链 DNA 的 5' 突出末端进行标记。

- 在 DNA 建库中对双链 DNA 的 3' 末端添加 A 尾，用于连接测序接头进行后续反应。
- 单链或双链 DNA 模板的双脱氧 DNA 测序。

实验操作

以双链 DNA 5' 突出末端的聚合反应为例：

- 参考下表内容配制好反应液

组分名称	加入量
10X Klenow Fragment (3'→5' exo-) Reaction Buffer	2.0 μl
dNTP Mix (10 mM)	0.1 μl
dsDNA with 5' overhang (10 μM) *1	1.0 μl
Klenow Fragment (3'→5' exo-) (5 U/μl)	1.0 μl
RNase free water	Up to 20 μl

*1: 模板量终浓度为 0.5 μM。

- 在 37°C 下反应 10 min, 75°C 下灭活 10 min。

结果示例

对本产品进行性能检测，底物为 33 bp 的单端突出双链 DNA。其中 C1: dsDNA with 5'/3' overhang; C2: AG12528 (本产品); C3: competitor (竞品公司 Klenow Fragment exo-); C4: AG12510 (AG Klenow Fragment)。

使用 15% 非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳检测，结果如下图所示：

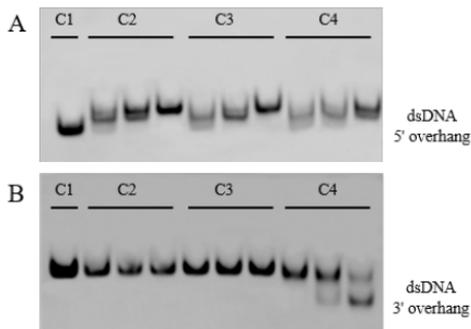


图 A. dsDNA 5' 突出末端聚合性能检测凝胶电泳图。每个样品酶添加量从左到右依次为 0.005U、0.01U 以及 0.02U。结果显示，三种酶均发生了聚合反应，且随着酶量的升高聚合效果逐渐增强，三种酶聚合性能相当。

图 B. dsDNA 3' 突出末端切除性能检测凝胶电泳图。每个样品酶添加量从左到右依次为 0.5U、1U 以及 2U。结果显示 C4 发生了切除反应，而 C2 和 C3 没有发生切除反应，条带与未处理模板相当，证明本产品无外切酶活性。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.