

Klenow Fragment, Exo-

产品编号	产品名称	包装
D7041S	Klenow Fragment, Exo-	200U
D7041M	Klenow Fragment, Exo-	1000U
D7041L	Klenow Fragment, Exo-	5000U

产品简介:

- Klenow Fragment, Exo-, 即没有外切酶活性的Klenow片段, 是大肠杆菌聚合酶I (E.coli. DNA polymerase I)的大片段(Large Fragment)缺失了外切酶活性的突变体。Klenow Fragment, Exo-保留了DNA聚合酶I的5'→3'聚合酶活性, 但缺少完整的Klenow酶的5'→3'和3'→5'外切酶活性。
- **特点:** 由于Klenow Fragment, Exo-没有外切酶活性, 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后续的连接。
- 碧云天生产的Klenow Fragment, Exo-补平双链DNA 5'突出(5' overhang)末端的效果请参考图1。

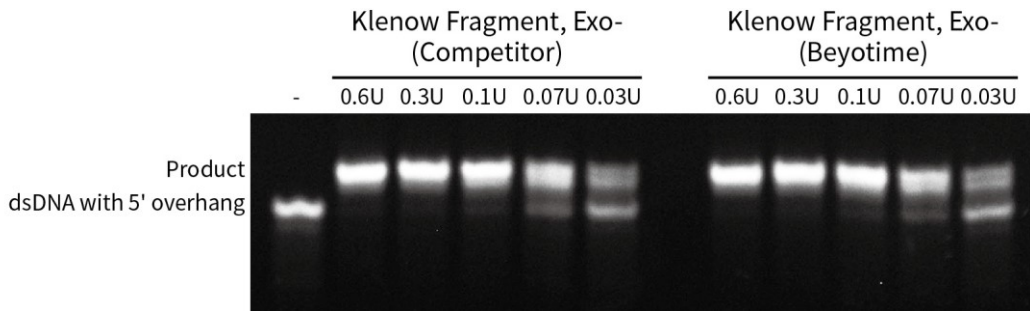


图1. 碧云天生产的Klenow Fragment, Exo-补平双链DNA 5'突出(5' overhang)末端的效果图。在20 μ l反应体系中加入图中指定量的本产品或T公司(Competitor)的Klenow Fragment, Exo-, 37 $^{\circ}$ C孵育10min进行反应, 75 $^{\circ}$ C孵育10min以终止反应。取出5 μ l, 加入1 μ l 6X DNA Loading Buffer, 然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 之后用NA-Red (EB升级换代产品, 2000X) (D0128)室温染色15min, 在紫外灯下观察实验结果。如图所示, 本产品与T公司的产品相比, 具有类似的催化效果。反应体系(20 μ l): 50mM Tris-HCl (pH8.0 at 25 $^{\circ}$ C), 5mM MgCl₂, 1mM DTT, 50 μ M dNTP Mix, 0.5 μ M dsDNA with 5' overhang。dsDNA with 5' overhang (也称具有5'突出末端的双链DNA)是使用D0251 Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)按照该产品说明书推荐的程序, 把 5'-ATACATAGATACATAGACTGGCCGTCGTTTTAC-3'和5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'这两条寡核苷酸进行退火反应得到的产物。

- 碧云天生产的Klenow Fragment, Exo-不会打平双链DNA 3'突出(3' overhang)末端的效果请参考图2。

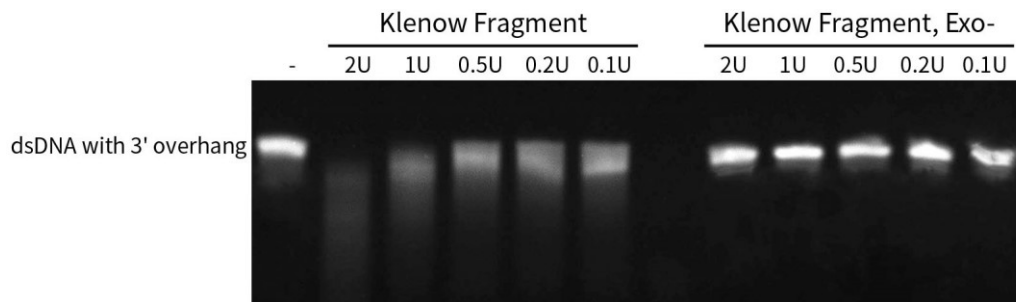


图2. 碧云天生产的Klenow Fragment, Exo-不会打平3'突出(3' overhang)末端的效果图。在20 μ l反应体系中加入图中指定量的本产品或本公司的Klenow Fragment, 37 $^{\circ}$ C孵育10min进行反应, 75 $^{\circ}$ C孵育10min以终止反应。取出5 μ l, 加入1 μ l 6X DNA Loading Buffer, 然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 之后用NA-Red D0128 (EB升级换代产品, 2000X)室温染色15min, 在紫外灯下观察实验结果。如图所示, 与本公司的Klenow Fragment相比, 本产品不具有打平3'突出末端的活性。反应体系(20 μ l): 50mM Tris-HCl (pH8.0 at 25 $^{\circ}$ C), 5mM MgCl₂, 1mM DTT, 50 μ M dNTP Mix, 0.5 μ M dsDNA with 3' overhang。dsDNA with 3' overhang (也称具有3'突出末端的双链DNA)是使用D0251 Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)按照该产品说明书推荐的程序, 把 5'-ATACATAGATACATAGACTGGCCGTCGTTTTAC-3'和5'-GTCTATGTATCTATGTAT-3'这两条寡核苷酸进行退火反应得到的产物。

- **用途:** 5'突出末端的标记; 随机引物法进行DNA标记; Sanger双脱氧法进行DNA测序等。
- **来源:** 由大肠杆菌表达, 表达基因的来源为突变的polA基因片段。
- **分子量:** 约68kDa(单体)。
- **活性定义:** 37°C 30分钟内, 催化10nmol脱氧核糖核苷酸(dNTPs)掺入到多聚核苷酸中所需的酶量定义为1个活性单位。
- **酶活性检测条件:** 67mM potassium phosphate (pH7.4), 6.7mM MgCl₂, 1mM 2-mercaptoethanol, 0.033mM dATP, 0.033mM dTTP, 0.4MBq/ml [³H]-dTTP, 62.5μg/ml poly(dA-dT)•poly(dA-dT)。
- **纯度:** 不含DNA内切酶, 不含RNase。
- **酶储存溶液:** 25mM Tris-HCl (pH7.5), 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% (v/v) glycerol。
- **Reaction Buffer (10X):** 500mM Tris-HCl (pH8.0 at 25°C), 50mM MgCl₂, 10mM DTT。
- **缓冲液兼容性:** 在碧云天的内切酶反应缓冲液1X O、1X R、1X Y、2X Y中的活性为100%, 在1X B、1X G中的活性为100%; 在碧云天的Taq、Pfu DNA polymerase和M-MuLV反应缓冲液中的活性为100%。
- **失活或抑制:** 75°C加热10分钟或加入适量EDTA均可导致Klenow Fragment, Exo-失活。金属离子螯合剂, 无机焦磷酸盐 (PPi), 大剂量的无机磷酸盐(Pi)均对Klenow Fragment, Exo-有抑制作用。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7041S-1	Klenow Fragment, Exo- (5U/μl)	40μl
D7041S-2	Reaction Buffer (10X)	200μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7041M-1	Klenow Fragment, Exo- (5U/μl)	200μl
D7041M-2	Reaction Buffer (10X)	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7041L-1	Klenow Fragment, Exo- (5U/μl)	1ml
D7041L-2	Reaction Buffer (10X)	5ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 酶使用时宜放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 随机引物法进行DNA标记:

a. 参考如下表格设置反应体系:

Reagent	Volume
DNA	10μl (100ng)
Reaction Buffer (10X)	5μl
125μM random decamer or hexamer primer	10μl
补充无核酸酶的去离子水	至40μl
混匀后沸水浴孵育5-10分钟, 立即置于冰浴冷却。进行后续步骤前离心沉淀液	
3 dNTP Mixture (0.25mM each, without the labeled dNTP)	4μl
[α- ³² P]-dNTP, ~110 TBq/mmol (3000Ci/mmol)	1.85MBq (50μCi)
Klenow Fragment, Exo-	1μl (5U)
补充无核酸酶的去离子水	至50μl

- b. 按上表设置好反应体系后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体。
- c. 对于 random decamer primer, 37°C 孵育 5 分钟; 对于 random hexamer primer, 37°C 孵育 10 分钟。
- d. 加入 4μl 0.25mM dNTP, 混匀后 37°C 孵育 5 分钟。
- e. 加入 1μl 0.5M EDTA, pH8.0 终止反应。
- f. 取 1μl 上述液体用于检测标记的效率。
- g. 用Sephadex G-50或Bio-Gel P-60或其它适当试剂盒纯化标记好的探针。

2. 双链DNA 5'突出(5' overhang)末端的标记:

a. 参考如下表格设置反应体系:

Reagent	Volume
Digested DNA	10~15 μ l (0.1~4 μ g)
Reaction Buffer (10X)	2 μ l
[α - ³² P]-dNTP, ~15-30 TBq/mmol(400-800Ci/mmol)	0.74 MBq (20 μ Ci)
或 [α - ³² P]-dNTP, ~110 TBq/mmol(3000Ci/mmol)	2.96 MBq (80 μ Ci)
3 dNTP Mixture (2.5mM each , without the labeled dNTP)	2 μ l
Klenow Fragment, Exo-	0.2 μ l (1U)
补充无核酸酶的去离子水	至20 μ l

- b. 按上述体系配好之后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体。
 c. 30°C 孵育 15 分钟。
 d. 75°C 孵育 10 分钟终止反应。

3. 双链 DNA 5'突出末端的补平:

a. 对于双链DNA 5'突出(5' overhang)末端的补平, 参考下表在冰浴中配制如下反应体系。

Reagent	Volume	Final Concentration
Nuclease-Free Water	(16.6-x) μ l	-
dsDNA with 5' Overhang	x μ l	~0.5 μ M or 5-200ng/ μ l
Reaction Buffer (10X)	2 μ l	1X
dNTP Mix (2.5mM each)	0.4 μ l	50 μ M
Klenow Fragment, Exo- (5U/ μ l)	1 μ l	0.25U/ μ l
Total Volume	20 μ l	-

注1: 按上表设置好反应体系后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用Vortex在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体; 如果同时进行多个反应, 可以把上表中除dsDNA with 5' overhang之外的所有溶液和酶提前混合, 分装到各反应管, 最后再加入dsDNA with 5' overhang。

注2: dsDNA with 5' Overhang如果是寡核苷酸, 最终浓度可以约为0.5 μ M, 如果是消化后的DNA质粒等最终浓度可以约为 5-200ng/ μ l。

- b. 37°C 孵育 10 分钟。
 c. 75°C 孵育 10 分钟以终止反应。

4. 其他用途可以参考上述用途或适当的文献资料进行。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7006	T4 DNA Ligase	40,000U
D7008	T4 DNA Ligase	200,000U
D7012	DNA末端平滑试剂盒	20次
D7035	Klenow Fragment	100U
D7037S	Klenow Fragment	200U
D7037M	Klenow Fragment	1000U
D7037L	Klenow Fragment	5000U
D7039	Klenow Fragment, Exo-	100U
D7041S	Klenow Fragment, Exo-	200U
D7041M	Klenow Fragment, Exo-	1000U
D7041L	Klenow Fragment, Exo-	5000U
D7051	T4 DNA Polymerase	50U
D7052S	T4 DNA Polymerase	150U
D7052M	T4 DNA Polymerase	750U
D7052L	T4 DNA Polymerase	3kU
D7096	T4 Polynucleotide Kinase	100U
D7160FT	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-) (试用装)	2000U
D7160S	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	10KU
D7160M	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	50KU
D7160L	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	200KU
D7176S	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	10KU

D7176M	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	50KU
D7176L	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	200KU
D7213S	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	200U
D7213M	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7215S	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	200U
D7215M	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7220	BeyoFusion™ DNA Polymerase	200U
D7221	BeyoFusion™ DNA Polymerase	1000U
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0621S	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	1000U
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	5000U
R0632S	T4 RNA Ligase 2 (dsRNA Ligase)	1000U
R0635S	T4 RNA Ligase 2, truncated	5kU
R0635M	T4 RNA Ligase 2, truncated	20kU
R0635L	T4 RNA Ligase 2, truncated	100kU
R0700S	小RNA 3'接头(5'腺苷化, 3'封闭)及连接试剂盒	20次
R0702S	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	1μg
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	5μg
R0716S	5' DNA Adenylation Kit	10次
R0716M	5' DNA Adenylation Kit	50次
R7090FT	Thermostable RNase H	50U
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U
D7371	dNTP Mixture (2.5mM each)	1ml
D7373	dNTP Mixture (25mM each)	250μl

Version 2021.08.17