

产品概述

Klenow Fragment (DNA 聚合酶 I 大片段), 也称作 Klenow 酶, 是大肠杆菌 DNA 聚合酶 I (E.coli. DNA polymerase I) C-端截短的大片段 (Large Fragment)。该酶保留了全长酶天然的 5'→3' DNA 聚合酶活性以及 3'→5'外切酶校正活性; 其 5'→3'外切酶活性已去除, 避免模板 DNA 发生非特异性降解。Klenow Fragment 的 3'→5'外切酶活性保证了其合成 DNA 时的准确性 (proofreading)。

试剂组成

组分	BR3P305-83 (300 U)	BR3P305-87 (1,500 U)
Klenow Fragment	30 μL	150 μL
10×KF Buffer	60 μL	300 μL

保存条件

-20±5℃存储。

注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。
2. 建议使用无核酸酶污染的耗材, 并对实验区域定期进行清理。
3. 本产品在使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20℃保存。

使用方法

1. 双链 DNA 5'突出末端的补平, 或 3'突出末端的打平

1.1 将各组分试剂在冰上解冻后, 颠倒或用手指轻弹混匀后瞬时离心, 置于冰上备用。按照下表配制反应液:

组分名称	体积 (μL)	备注
dsDNA with 5' or 3' overhang	1	5~200 ng
10×KF Buffer	2	1×
2.5 mM dNTP Mix	0.4	50 μM
Klenow Fragment	0.5	5 U
ddH ₂ O	Up to 20	/

注: 推荐按上表顺序配制体系, 最后加入 Klenow Fragment, 用移液器吹打或轻轻涡旋混匀。待处理的 DNA 量较大时, 可以适当延长酶切时间或按比例放大反应体系。

- 1.2 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心将管壁反应液收集至管底。
- 1.3 37℃ 孵育 10 分钟。
- 1.4 75℃ 孵育 10 分钟终止反应。