

产品概述

Klenow Fragment(3' →5' 外切酶缺陷型, Klenow exo-) 是大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 大片段的重组突变体, 通过定点突变去除了野生型酶固有的 3' →5' 核酸外切酶(校对)活性, 同时完整保留了 5' →3' DNA 聚合酶活性, 以及天然 Klenow 片段不具备 5' →3' 核酸外切酶的特性。

本品无可测出的引物或模板 3' 末端的 3' →5' 外切酶降解活性, 特别适用于需完整保留 3' 末端的实验场景。其对引发单链 DNA 模板具有强劲的 5' →3' 聚合酶活性, 无显著链置换能力, 经严格质控无核酸酶、RNase 及非特异性核酸酶污染。

试剂组成

组分	BR3P108-51 (100 U)	BR3P108-54 (500 U)	BR3P108-56 (1000 U)
Klenow Fragment, Exo-	20 μL	100 μL	200 μL
10×KF Buffer	100 μL	500 μL	1,000 μL

保存条件

-20±5℃存储。

注意事项

1. 请使用无核酸酶污染的耗材, 并对实验区域定期进行清理。
2. PCR 所需要的其他试剂需自备或另外购买。
3. 请使用高质量、高纯度模板。
4. 本产品仅用作科研用途。

使用方法

1. 反应体系配制

1.1 将各组分试剂在冰面上解冻后, 颠倒混匀并瞬时离心, 置于冰上备用。按照表 1 配制反应液:

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
变性后或 5' 突出的模板 DNA	适量	<1,000 ng
Forward Primer (10 μM)	2 ^a	0.4 μM
Reverse Primer (10 μM)	2 ^a	0.4 μM
10×KF Buffer	5	1×
2.5 mM dNTP Mix	1	0.05 mM
Klenow Fragment, Exo-	1 ^b	5 U/50 μL
ddH ₂ O	Up to 50	

注 a: 对于随机引物标记 DNA, 需选择随机六聚体引物或随机十聚体引物, 且将终浓度提高至 25 μM, 搭配标记的 dNTP Mix。对于 5' 突出末端标记, 无需添加引物, 搭配标记的 dNTP Mix。对于 5' 突出末端的补平, 无需添加引物, 搭配普通 dNTP Mix。

注 b: 酶量可根据具体应用调整, 但不建议超过 15 U/50 μL。

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 30℃~37℃ 孵育 5~15 分钟。

1.4 75℃ 孵育 10 分钟终止反应。