

Klenow Fragment

(Large Fragment *E. coli* DNA Polymerase I)

Code No. 2140AK

包装量: 200 U
浓度: 2 U/μl

制品说明:

本酶在 DNA 模板和引物存在的条件下, 选择性地催化底物 dNTP 沿 5' → 3' 方向合成与模板互补的 DNA¹⁾。本酶是从大肠杆菌中纯化得到, 其中克隆了 2/3 的 *E. coli* DNA polymerase I 基因片段 (3' 端计算)。因此具有 3' → 5' 外切酶活性但是没有 5' → 3' 外切酶活性²⁾。酶贮存溶液中用乙二醇替代了甘油, 避免在测序胶电泳*时出现变形的条带。(* Patent issued to Takara Bio)

酶贮存溶液:

50 mM	Potassium Phosphate, pH6.5
1 mM	DTT
50%	Ethylene glycol

保存: -20°C

起源:

Escherichia coli carrying the plasmid which encodes the gene of Klenow Fragment

活性定义:

以合成的 Poly d(A-T) DNA 为模板/引物, 在 37°C、pH7.4 的条件下, 30 分钟内使 10 nmol 的全核苷酸掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位(unit)。

活性定义反应液:

67 mM	potassium phosphate, pH7.4
6.7 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
20 μM	substrate DNA
33 μM	dATP
33 μM	[³ H] dTTP

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途:

1. 双脱氧法 DNA 序列测定 (Sanger 法)³⁾。
2. 双链 DNA 5' 突出末端的平滑化⁴⁾。
3. 寡核苷酸定向诱变 (Oligonucleotide directed mutagenesis) 中双链 DNA 的合成⁵⁾。
4. 使用随机引物进行 DNA 标记。

使用注意:

1. 本酶有高度稳定性, 稀释时不失活, 但剧烈搅拌会失活。
2. 由于不含有 5' → 3' 的外切核酸酶活性, 因此不表现切口平移活性。适合双链 DNA 末端以及缺口 (Gap) 的修复。
3. 与 T4 DNA Polymerase 相比, 对模板高级结构的抵抗性能较好。
4. 由于对 DNA 的亲水性较强, 过量使用易发生凝集作用 (Aggregation) 从而抑制反应进行。
5. 若用于 5' 突出末端的修复时, 补平后有时会多加一个碱基⁶⁾。
6. 与 *E. coli* DNA Polymerase I 相同, ddNTPs 的掺入不受底物抑制。

参考文献:

- 1) Jacobsen H, Klenow H, and Overgaard-Hansen K. *Eur J Biochem.* (1974) **45**: 623-627.
- 2) Joyce C M, Kelley W S, and Grindley N D F. *J Biol Chem.* (1982) **257**: 1958-1964.
- 3) Sanger F, Nicklen S, and Coulson A R. *Proc Natl Acad Sci USA.* (1977) **74**: 5463-5467.
- 4) Sambrook J, Fritsch E F, and Maniatis T. *in Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* (1989) 5.40-5.43: Cold Spring Harbor Laboratory.
- 5) Norris K, Norris F, Christiansen L, and Fiil N. *Nucleic Acids Res.* (1983) **11**: 5103-5112.
- 6) Clark J M, Joyce C M, and Beardsley G P. *J Mol Biol.* (1987) **198**: 123-127.

注意

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。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联络我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202107Da