

## EcDNApolI KF

目录号：AE0602

使用前请仔细阅读说明书

### 产品说明

Klenow fragment of EcDNApol I (EcDNApolI KF) 是 *E. coli* DNA polymerase I 的 Klenow 大片段，保留了聚合酶活性和 3'→5' 核酸外切酶活性，但失去了 5'→3' 核酸外切酶活性。Klenow 片段保留了全酶的聚合酶保真度。

本公司 EcDNApolI KF 是在大肠杆菌中重组表达，并多步纯化的重组酶。

### 活性定义

1 单位指在温度为 37°C，1× EcDNApolI KF 反应缓冲体系下，30 min 内将 10 nmol dNTP 掺入酸不溶性物质所需的酶量。

### 活性测定条件

10 mM Tris-HCl, 7 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mM DTT, pH7.5 @25°C, 37°C 温育。

浓度：5U/μl

保存条件：-20°C 保存

### 特点

- 5'→3' 核酸外切酶活性缺失
- 中等链置换活性
- 热失活 75°C×20min

### 适用范围

- 去除 3' 突出部分或填充 5' 突出部分以形成平末端（末端平滑化）
- Sanger 双脱氧法 DNA 测序
- 使用随机引物产生探针
- 第二链 cDNA 合成

### 产品包装规格及组成

Component	AE0602A	AE0602B
EcDNApolI KF	200U	1kU
10× EcDNApolI KF Buffer	0.2ml	1.0ml

### 质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

### 酶贮存缓冲液

25 mM Tris-HCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C。

### 注意事项

- 末端平滑化反应条件：

在 1×AM buffer A-D 或 T4 DNA 连接酶反应缓冲液中分别添加 33μM 的 dNTP、1μg DNA、1U EcDNApolI KF，在 25°C 下孵育 15 分钟，加入终浓度为 10 mM 的 EDTA，在 75°C 加热 20 分钟，停止反应。

注意：温度升高、酶用量过多、未补充 dNTPs 或反应时间过长可能会由于酶的 3'→5' 核酸外切酶活性而导致末端凹陷。

- 用于 Sanger 双脱氧法测序时，建议反应体系酶浓度为 1U/5μl。

### 相关产品

AE1301: T4 DNA ligase

## 应用实例

### 1. DNA 的补平反应

1) 按下表配制反应体系

按需进行后续实验。

反应组分	ul
10× Buffer	2
dNTP (0.1mM dATP,dGTP,dTTP)	2
*底物: 带有 3'凹陷的双链 DNA	50ng-1μg
EcDNApolI KF (5U/μl)	1
H <sub>2</sub> O	Variable
总体积	20

2) 37℃×30-60min 反应,

3) 70℃×15min 保温, 失活酶,

4) 进行后续相关实验, 例如 DNA 连接反应等。

\*也可以用带有 5'末端 FAM 等荧光标记的引物, 进行延伸反应, 制备荧光标记 DNA。

**警告:** 本产品仅限科研实验使用, 临床应用安全性和有效性未鉴定, 不可用于医疗临床诊断。