

Klenow Fragment (exo^-)

(*Escherichia coli*)

Klenow Fragment (exo^-)

(*Escherichia coli*)

Artikel Nr.	Größe
E1092-01	200 Einheiten
E1092-02	1 000 Einheiten

Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 10 nmol Nukleotide in 30 Minuten bei 37°C in die säureunlösliche Form zu überführen.

Lagerbedingungen:

Lagerung bei -20°C

Großes Fragment der *E. coli* DNA-Polymerase I, welches weder die 3'→5' Exonuklease noch die 5'→3' Exonuklease-Aktivität der Polymerase I besitzt.

Beschreibung:

- Besitzt weder 3'→5' Exonuklease noch 5'→3' Exonuklease-Aktivität.
- Ultrareines rekombinantes Enzym.
- Geeignet für die Synthese des zweiten DNA-Stranges in der cDNA-Synthese (3).
- Geeignet für 3'-Endemarkierungen und für das Auffüllen von 5'-hervorstehenden klebrigen Enden (protruding sticky ends) (4).

Lagerungspuffer (Storage Buffer):

50 mM Kalium-Phosphat (pH 7.0), 0.25 mM Dithiothreitol und 50 % [v/v] Glycerin.

Reaktionsbedingungen der Qualitätskontrolle:

67 mM Kalium-Phosphat (pH 7.4), 6.7 mM MgCl₂, 1 mM Dithiothreitol, 0.033 mM jeweils von dCTP, dGTP, dTTP und [α -³²P]dATP sowie 4.5 µg aktivierte DNA. Inkubation bei 37°C für 30 Minuten in einem Reaktionsvolumen von 100 µl.

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease- und 5'-Exonuclease Aktivitäten geprüft.

Literatur:

1. Derbyshire, V., Freemont, P.S., Sanderson, M.R., Beese, L., Friedman, J.M., Joyce, C.M. und Steitz, T.A. (1988) *Science* 240, 199-201.
2. Sanger, F., Nicklen, S., und Coulson, A. R. (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 5463-5467
3. Houdebine, L. M. (1976) *Nucleic Acids Res.* 3, 615-630.
4. Sambrook, J., Fritsch, E.F., und Maniatis, T (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition pp. 5.34, 5.40-5.43 Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor.*