

无甘油DNA Pol I Klenow片段exo- (HC) 产品处理指南

运输:	干冰/蓝冰
货号:	MDX218
批号:	见瓶身
浓度:	50 U/ μ L

储存温度: -20 °C



储存和稳定性:

无甘油DNA Pol I Klenow片段exo- (HC) 采用蓝冰运输, 应在到货后储存于-20°C下。应避免反复冻融循环。

有效期:

在外包装盒标签上的有效期内, 在推荐条件下储存并正确处理时, 试剂盒可保持完整活性。

安全预防措施:

请参阅材料安全数据表了解更多信息。

质控:

Meridian遵守ISO 13485质量管理体系运行。无甘油DNA Pol I Klenow片段exo- (HC) 活性通过测量引物延伸单链DNA并与参考酶进行比较来测定。无甘油DNA Pol I Klenow片段exo- (HC) 在检测放行前已经过活性、纯度和核酸酶污染测试。

注:

仅供科研或进一步生产使用。

产品描述

Meridian无甘油DNA Pol I Klenow片段exo- (HC) 是大肠杆菌DNA聚合酶I的高浓度N端截短片段, 保留了聚合酶活性, 但失去了5'-3'核酸外切酶活性, 并具有突变(D355A、E357A), 消除了3'-5'核酸外切酶活性。该产品设计用于下一代测序文库制备中适配子连接的加dA尾和加dT尾。无甘油DNA Pol I Klenow片段exo-还可用于DNA标记和双脱氧DNA测序。该产品随附5x反应缓冲液, 其中含有冻干所需的赋形剂。

组分

表 1

组分
无甘油DNA Pol I Klenow片段exo- (HC), 50 U/ μ L
Lyo-Ready™可冻干Klenow反应缓冲液, 5x

加A尾方案

- 如表2所示将反应试剂装入冰上的微量离心管: 所示体积适用于20 μ L反应。
- 在37°C下孵育反应试剂30分钟。
- 纯化所得DNA样本。

表 2

试剂	体积	最终浓度
钝性末端DNA	X μ L	1-5 μ g
Lyo-Ready™可冻干Klenow反应缓冲液	4 μ L	1x
dATP	x μ L	0.1 mM
DNA Pol I Klenow片段exo- (HC)	X μ L	0.25 - 0.5 U/ μ L
水	最终20 μ L	

注

- Klenow适用于各种缓冲液, 在这种情况下, 每1 μ g DNA需要的酶滴定范围可能是1-5 U。
- 钝性末端DNA应在反应前纯化。
- 应在1x Lyo-Ready™可冻干Klenow反应缓冲液中制备Klenow片段的稀释液。
- 使用前务必涡旋5x Lyo-Ready™可冻干Klenow反应缓冲液。
- 避免多次冷冻/解冻酶和缓冲液。

冻干方案

按以下顺序将反应试剂装入微量离心管:

- 按表3所示顺序混合试剂。所示体积足以进行10x20 μ L反应。
- 在微量离心机中彻底涡旋并脉冲离心。
- 请参阅《MDX218冻干和冻干后使用指南》了解建议的冻干循环条件。
- 在室温下密封并储存冻干材料, 待用。
- 根据需要, 用20 μ L含模板、dNTP、引物或探针的溶液在反应瓶中对冻干材料进行复溶。
- 在微量离心机中短暂涡旋和脉冲离心。
- 继续进行预期用途。

表 3

试剂	体积	最终浓度
可冻干Klenow反应缓冲液 (5x)	40 μ L	1x
DNA Pol I Klenow片段exo- (HC)	x μ L	0.25 -0.5 U/ μ L
水	最终200 μ L	

相关产品

产品	货号
无甘油T4连接酶 (HC)	MDX200
无甘油T7 RNA聚合酶 (HC)	MDX201
无甘油RNA酶H (HC)	MDX202
无甘油T4 DNA聚合酶 (HC)	MDX207
无甘油DNA Pol I Klenow片段 (HC)	MDX208

冻干和冻干后使用指南



本文件中的指南可帮助用户避免冻干过程中的问题。有关这些预冻干产品的储存和稳定性、有效期和一般处理方法，请参阅各产品处理指南。

安全预防措施：

处理试剂前请阅读并理解SDS（安全数据表）。这些安全数据表的副本可在我们官网上查阅或根据请求获得。

冻干产品有几个优点，包括可室温运输和储存、有效期延长和样品体积灵活性提高。然而，为了与冻干兼容，酶制剂必须无甘油，并含有专门的冻干赋形剂，以便在混合液暴露于各种冻干条件（包括冷冻、升温、真空和脱水）时能完好保存。理想的冻干制剂应以冻干形式稳定酶，并允许酶制剂快速复溶和再激活，而不影响其复溶后的性能。

冻干

- 表1中的冻干循环方案适用于在标准反应管和反应板中加入5x Lyo-Ready™可冻干Klenow反应缓冲液中的无甘油DNA Pol I Klenow片段（HC）的冻干过程。这些参数仅供参考，应根据不同的用户格式和系统进行优化。
- 在冷冻步骤中可添加退火步骤，以帮助非晶质材料结晶。
- 初级干燥和二次干燥的综合时间可延长至24小时。
- 对于含有赋形剂的产品，无需再添加任何赋形剂来协助冻干。

表 1. 冻干指南

步骤	温度	时间	产品描述
冷冻	+4 °C	10 min	恒温
	-45 °C	1.0 °C/min	升温
初级干燥	-45 °C	180 min	恒温
	-40 °C	0.5 °C/min	升温
	-40 °C	720 min	恒温
二次干燥	+25 °C	0.5 °C/min	升温
	+25 °C	240 min	恒温

冻干后

为了最大限度延长有效期，我们建议在惰性气体条件下（如氮气或氩气）包装冻干材料，并放入干燥剂袋以提高稳定性。包装袋应热封并贴上标签。

技术支持

如有任何技术问题，请发送电子邮件联系我们的技术支持团队：
mbi.tech@meridianlifescience.com。