

Klenow Fragment

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

Code No. 2140AK **Size:** **200 U**
Conc.: **2 U/ μ l**

Description:

Klenow fragment, which requires template DNA and primer for its function, selectively catalyzes the transfer of dNTPs to the 3'-OH terminus of the primer that is complementary to the template.¹⁾

This enzyme is purified from *E. coli* cells in which the 3'-end two-thirds of the *E. coli* DNA polymerase I gene (Klenow fragment) is cloned. Thus, it has 3' → 5' exonuclease activity but not 5' → 3' exonuclease activity of intact DNA polymerase I.²⁾

Ethylene glycol is contained instead of glycerol in the composition so that good result, without distortion, can be obtained in the sequencing gel electrophoresis.* (* Patent issued to Takara Bio)

Storage Buffer:

50 mM	Potassium Phosphate (pH 6.5)
1 mM	DTT
50%	Ethylene glycol

Storage: -20°C

Source:

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

Unit definition:

One unit is the amount of the enzyme catalyzing the incorporation of 10 nmol of total nucleotides into acid-insoluble products in 30 minutes at 37°C and pH 7.4, with poly d(A-T) as the template-primer.

Reaction mixture for unit definition:

67 mM	potassium phosphate (pH 7.4)
6.7 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
20 μ M	substrate DNA
33 μ M	dATP
33 μ M	[³ H]dTTP

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Applications:

1. For dideoxy sequencing by the Sanger method.³⁾
2. Blunting of 5'-protruding termini.⁴⁾
3. Synthesis of double-stranded DNA during oligonucleotide-directed mutagenesis.⁵⁾
4. Labeling with random primers.

Note:

The enzyme is highly stable, and is not inactivated by dilution, but it may become inactive after being stirred strongly. It does not have nick translation activity because it lacks 5' → 3' exonuclease activity. For the same reason, it is suitable for the filling-in of gaps and for the repair of the termini of double-stranded DNA.

This enzyme can incorporate ddNTPs without being inhibited by its own substrate, which *E. coli* DNA polymerase I is. This enzyme is less inhibited by the steric structure of the template DNA than is T4 DNA polymerase. Because it has a very strong affinity for DNA, an excess may inhibit the reaction because of aggregation of DNA and the enzyme. When blunting 5'-protruding termini, this enzyme may add extra one base after filling.⁶⁾

References:

- 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.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc.

If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com.

Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

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

Code No. 2140AK 容量： 200 U
 濃度： 2 U/ μ l

●製品説明

Klenow Fragment は、鋳型、プライマー (DNA、RNA とともに可) 存在下で dNTP を基質とし、鋳型に相補的な DNA を 5' → 3' 方向に合成する酵素である。本酵素は *E. coli* DNA Polymerase I の構造遺伝子 pol A の開始コドンから下流約 1,000 bp までを欠失させたものをクローニングした大腸菌より生産している。そのため、3' → 5' exonuclease 活性は含まれるが、5' → 3' exonuclease 活性は全く含まれない。²⁾

また本製品は、形状組成の一部をグリセロールからエチレングリコールに変えることにより、シーケンスゲル電気泳動において、ゆがみのない泳動像を得ることができるようにしたものである。^{*}

なお、活性の定義、純度は製品コード 2140A/B と全く同じである。

(※弊社特許：グリセロール共存下では塩基数約 350 以上の泳動像に屈曲が生じ、この領域の配列分析が不可能になるという欠点があった。しかし、エチレングリコール等の 2 価のアルコールに換えることにより、このような屈曲の形成を防ぐことができる。)

●形状

50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH6.5)
1 mM DTT
50% エチレングリコール

●保存 - 20°C

●起源

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

●活性の定義

ポリ d (A-T) 合成 DNA を鋳型/プライマーとして用い、37°C、pH7.4 において 30 分間に 10 nmol の全ヌクレオチドを酸不溶性沈殿物に取り込む酵素活性を 1 U とする。

●活性測定用反応液組成

67 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH7.4)
6.7 mM MgCl₂
0.1 mM DTT
20 μ M substrate DNA
33 μ M dATP
33 μ M [³H] dTTP

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

●用途

1. dideoxy 法によるシーケンシング (Sanger 法)³⁾
2. 5' 突出末端の末端平滑化⁴⁾
3. Oligonucleotide directed mutagenesis における二本鎖 DNA 合成⁵⁾
4. ランダムプライマーを用いたラベリング反応

●使用上の注意

1. 希釈による失活はないが、強く攪拌すると失活することがある。
2. 5' → 3' exonuclease 活性が含まれないため、ニックトランスレーション活性を示さない。同様の理由から、二本鎖 DNA の末端およびギャップの修復に適している。
3. *E. coli* DNA polymerase I と同じく、ddNTP を阻害されることなく取り込む。
4. T4 DNA Polymerase に比べて、鋳型 DNA の高次構造に対しても抵抗性が高い。
5. DNA に対する親和性が強く、過剰に用いると aggregation が起こり、反応が阻害されることがある。
6. 5' 突出末端の修復に用いると、filling 後に 1 塩基余分に付加する場合がある。⁶⁾

●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 Fhil N. *Nucleic Acids Res.* (1983) **11**: 5103-5112.
- 6) Clark J M, Joyce C M, and Beardesley G P. *J Mol Biol.* (1987) **198**: 123-127.

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201901Da