

ハ ル ク



ニッポン・ジーン

HULK

アルギン酸分解酵素

褐藻類からの核酸抽出に最適

概要

本品は、*Flavobacterium*属細菌由来のアルギン酸リアーゼで、大腸菌で発現・精製した組換え酵素です。アルギン酸を効率よく分解することができます。アルギン酸はコンブ等の褐藻類に多く含まれる粘性の高い多糖類です。褐藻類から核酸を抽出する際に、本酵素で処理することによって粘性がなくなり、効率的に核酸抽出を行うことができるようになります。

* HULKは Hokkaido University alginate Lyase for Kelp degradation の略です。



特徴

- 至適温度：50℃
- 至適pH：7.8～8.0
- 至適NaCl濃度：100 mM
- 40℃で30分加熱後も95%以上の活性を保持する。
- 基質に対する比活性は、アルギン酸 = PolyM > PolyMG > PolyG

起源	<i>Escherichia coli</i> (Recombinant)
酵素形状	20 mmol/l Tris-HCl (pH 8.0), 100 mmol/l NaCl, 50% Glycerol
活性	≥5,000 units/mg
単位の定義	1 unit は、0.1% アルギン酸ナトリウムを基質として、30℃において235 nmの値が1分間に0.1上昇する酵素活性とする。

内容

製品名	Code No.	容量	希望納入価格*
HULKアルギン酸分解酵素	319-08261	5 mg	32,000円

保存温度：-20℃

* 希望納入価格に消費税は含まれておりません。

製造元 株式会社ニッポンジーン

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547
URL: <http://www.nippongene.com>

販売元 富士フィルム 和光純薬株式会社

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806

実験例 1. アルギン酸分解酵素の活性比較

本酵素の活性測定方法を用いて活性を算出し、HULKアルギン酸分解酵素と他社アルギン酸リアーゼの比活性を比較した。
 活性測定の結果、HULKアルギン酸分解酵素は他社アルギン酸リアーゼと比較して、30~80倍比活性が高かった。

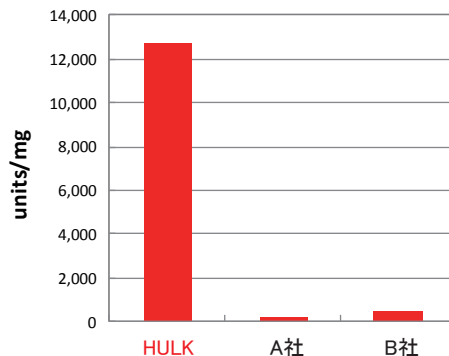


図1 アルギン酸分解酵素の比活性

実験例 2. 生マコンブからのDNA抽出

生マコンブ*1 50 mgから、DNA抽出キット「GM quicker 2」のコメDNA抽出プロトコルを用いてDNAを抽出した(n=4)。抽出工程でHULKアルギン酸分解酵素による処理を行わない場合(HULK-)と行った場合(HULK+)のDNAの品質を電気泳動およびPCR法により比較した。

*1 本実験に使用したマコンブは、国立大学法人 北海道大学・大学院水産科学研究院 井上 晶 博士よりご提供いただきました。その他サンプル(乾燥マコンブ)からの抽出プロトコルは、ニッポンジーン様のホームページをご覧ください。



GM quicker 2 (Code No.310-06591)
穀物からのDNA抽出キット

プロトコール

★: GM quicker 2 の構成品

- 生マコンブ(50 mg)を 2.0 ml容量マイクロチューブに入れる
- ↓ ←700 μ l のGE1 Buffer(★)を添加
- ↓ ←20 μ l のProteinase K(★)を添加
- ペッスルですりつぶす
- ↓ 15分間、60°Cで加温
- ↓ ←85 μ l のGE2-K Buffer(★)を添加し、ボルテックスミキサーにて混和
- ☞ 遠心($\geq 13,000 \times g$, 5分間, 室温)
- 上清 400 μ l を新しい 1.5 ml チューブに移す
- ↓ ←10 μ l のRNase A(★)を添加
- ↓ ←20 μ l のHULKアルギン酸分解酵素を添加
- ↓ 15分間、37°Cで加温
- ↓ ←150 μ l のGB3 Buffer(★)を添加
- ↓ ←150 μ l のイソプロパノールを添加し、10~12 回転倒混和

- 続き
- ↓
- ☞ 混合液を Spin Column(★)に全量移す
- ☞ 遠心($13,000 \times g$, 1分間, 室温)し、濾液は廃棄
- ↓ ←650 μ l のGW Buffer(★)を Spin Column に添加
- ☞ 遠心($13,000 \times g$, 1分間, 室温)し、濾液は廃棄
- ☞ Spin Columnを新しい 1.5 ml チューブに移す
- ↓ ←50 μ l の10 mM Tris-HCl(pH8.5)またはTE(pH8.0)(★)を滴下
- ↓ 3分間室温で静置
- ☞ 遠心($13,000 \times g$, 1分間, 室温)
- 回収した溶出液 (Genomic DNA)

結果

粘性が高く、DNA抽出が困難であった生マコンブからも、HULKアルギン酸分解酵素を加えることで、効率良くDNAを抽出することができた。また、PCRを阻害する夾雑物が除去され、高純度のDNAを得ることができた。

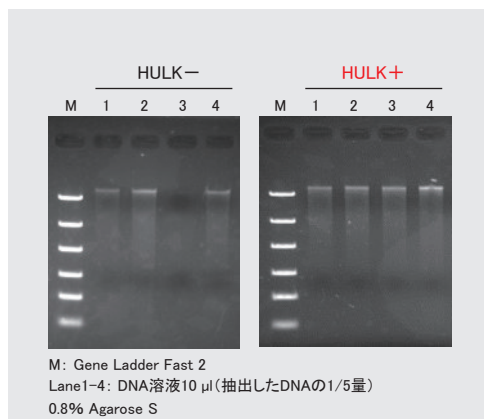


図2 抽出DNAのアガロースゲル電気泳動による比較

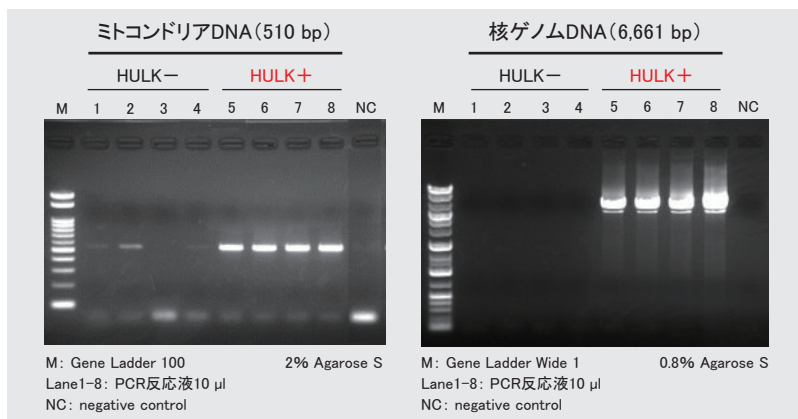


図3 抽出DNAを鋳型としたPCR増幅効率の比較(増幅鎖長: 510 bp, 6,661 bp)