

# T4 Polynucleotide Kinase

## I. 製品説明

本品は、ポリヌクレオチド 5'-OH 末端へ、ATP の  $\gamma$  位リン酸を転移する反応を触媒する酵素です。DNA や RNA の 5' 末端の標識や合成 DNA の 5' 末端のリン酸化に用いられます。また、T4 ファージの *pseT* gene をプラスミドにクローン化して得た高生産株の大腸菌より精製しています。なお、リン酸化に必要な反応専用バッファー (3種類) を添付しています。

## II. 保存

-20°C

## III. 活性定義

1 unit は、Micrococcal nuclease で処理した仔牛胸腺 DNA を基質として、37°C、pH 7.6 において 30 分間に 1 nmole の [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]ATP を酸不溶性沈殿物に取り込む酵素活性とする。

## IV. 起源

*Escherichia coli* JM109-(pKS-PNK7)

## V. 形状

50 mM	KCl
10 mM	Tris-HCl (pH 7.4)
0.1 $\mu$ M	ATP
0.2 mg/ml	BSA
50%	Glycerol

## VI. 添付品

- 10 x Kinase Buffer A
  - 5 x Kinase Buffer B
  - 5 x Kinase Buffer C
- 添付反応バッファー (3種類 A、B、C) は酵素反応条件の A は 10 倍、B 及び C は 5 倍の濃度です。

## VII. 純度

本酵素 20 units と 1  $\mu$ g の  $\lambda$ /HindIII フラグメント及び基質 RNA を 37°C、24 時間反応させても DNA 及び RNA のアガロースゲル電気泳動パターンに変化は認められない。

## VIII. 酵素反応条件

- 10 x Kinase Buffer A を用いる場合 (37°C)  
50 mM Tris-HCl (pH 7.6)、10 mM MgCl<sub>2</sub>、5 mM DTT、0.1 mM Spermidine、0.1 mM EDTA
- 5 x Kinase Buffer B を用いる場合 (37°C)  
50 mM Imidazole-HCl (pH 6.4)、5 mM DTT、18 mM MgCl<sub>2</sub>、6%(w/v)PEG6000
- 5 x Kinase Buffer C を用いる場合 (37°C)  
50 mM Imidazole-HCl (pH 6.4)、5 mM DTT、18 mM MgCl<sub>2</sub>、0.1 mM EDTA、0.1 mM ADP、1 nmol/l ATP、0.1 mM Spermidine、4.8%(w/v) PEG6000

## IX. 使用例

プライマー	5'末端として 1~50 pmol
10 x Kinase Buffer A	5 $\mu$ l
10 mM rATP	5 $\mu$ l (final 1mM)
T4 Polynucleotide Kinase	20 units
Total	d.d. H <sub>2</sub> O up to 50 $\mu$ l

↓  
37°Cで 30 分間反応

↓  
70°C、10 分間の加熱で酵素反応を停止

すぐに使用しない場合は、フェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール抽出およびエタノール沈殿による精製を行う。

その他のリン酸化反応については、ニッポンジーンホームページをご覧ください。

本品は、試薬(試験研究用)として販売しているものです。  
医薬品の用途には使用しないでください。