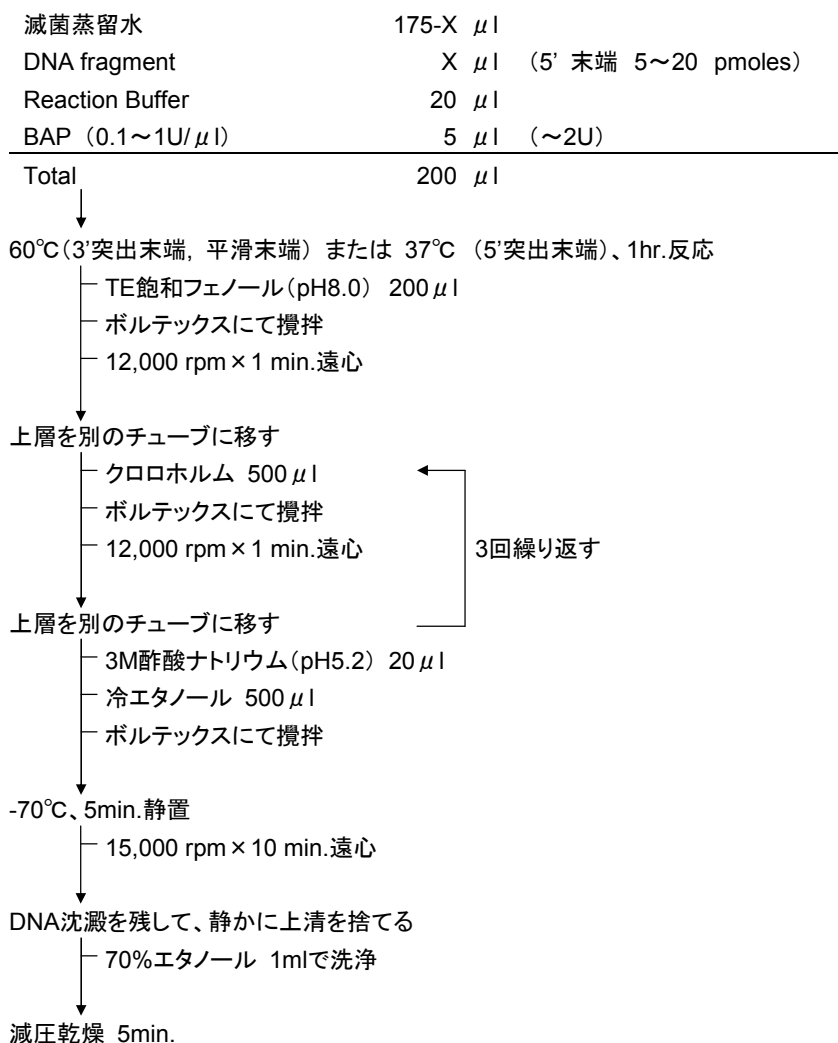


# *E.coli* Alkaline Phosphatase 取扱説明書

## 1. 添付試薬組成

- ・10 × Reaction Buffer for BAP
  - 500mM Tris-HCl(pH 8.0)
  - 10mM MgCl<sub>2</sub>

## 2. BAPによる脱リン酸化方法



※BAPは熱などに対して耐性が強いいため、反応後にはDNAの精製を行ってください。

上記のフェノール/クロロホルム処理の代わりに、DNAフラグメント精製キットMagExtractor™-PCR & Gel Clean up-(Code:NPK-601, TOYOBO)を用いて精製することも可能です。

### 東洋紡株式会社

ライフサイエンス事業部(大阪)  
TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833  
E-mail: order\_lifescience@toyobo.jp

テクニカルライン  
TEL 06-6348-3888  
(開設時間 9:00~12:00 13:00~17:00 土、日、祝日を除く)  
E-mail:tech\_osaka@toyobo.jp

ライフサイエンス事業部(東京)  
TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951  
E-mail: order\_lifescience@toyobo.jp

[URL] <http://www.toyobo.co.jp/bio>

# *E.coli* Alkaline Phosphatase Manual

## 1. Composition of Supplied Reagent:

- 10 × Reaction Buffer for BAP
  - 500mM Tris-HCl (pH 8.0)
  - 10mM MgCl<sub>2</sub>

## 2. Dephosphorylation of DNA fragments by BAP

Sterilized disitilled water	175-X $\mu$ l	
DNA fragment	X $\mu$ l	(5' termini 5~20 pmoles)
Reaction Buffer	20 $\mu$ l	
BAP (0.1~1U/ $\mu$ l)	5 $\mu$ l	(~2U)
Total	200 $\mu$ l	

Incubate at 60°C (3' protruding end, blunt end) or at 37°C (5' protruding end) for 1hr.

— Add 200  $\mu$ l of TE-saturated phenol (pH8.0)

— Vortex

— Centrifuge at 12,000 rpm for 1 min.

Transfer upper layer to a new tube

— Add 500  $\mu$ l of chloroform

— Vortex

— Centrifuge at 12,000 rpm for 1 min.

Repeat this step 3 times

Transfer upper layer to a new tube

— Add 20  $\mu$ l of 3M Na-Acetate (pH5.2)

— Add 500  $\mu$ l of cold EtOH

— Vortex

Incubate at -70°C for 5 min.

— Centrifuge at 15,000 rpm for 10 min.

Remove the supernatant carefully

— Rinse with 1ml of 70% EtOH

Dry under vacuum for 5 min.

※Because BAP is very stable and hard to be inactivated by heating, it is recommended to purify DNA fragments by Phenol/ Chloroform treatment after the dephosphorylation reaction.

In stead of Phenol/ Chloroform treatment, DNA fragment purification Kit ( MagExtractor™-PCR & Gel Clean up-, Code:NPK-601, TOYOBO) is also available.

**TOYOBO CO., LTD**

Life Science Department

2-8. Dojima hama 2-Chome, Kita-ku. Osaka, 530-8230 JAPAN

[URL] <http://www.toyobo.co.jp/e/bio>