

22-05



T4 Polynucleotide Kinase

(Code No. PNK-111)

取扱説明書

TOYOBO CO., LTD.
Bioproducts Sales and Marketing Department
OSAKA JAPAN

TOYOBO

A3282K

1. 添付バッファー

① 10×Protruding End Kinase Buffer (1.5mL×1本)

500mM Tris-HCl, pH8.0
100mM MgCl₂
50mM Dithiothreitol

② 10×Blunt End Kinase Buffer (1.5mL×1本)

500mM Tris-HCl, pH9.5
100mM MgCl₂
50mM Dithiothreitol

③ Denaturation Buffer (1.5mL×2本)

20mM Tris-HCl, pH9.5
1mM Spermidine
100μM EDTA

2. T4 Polynucleotide KinaseによるDNA標識法

① 標識反応

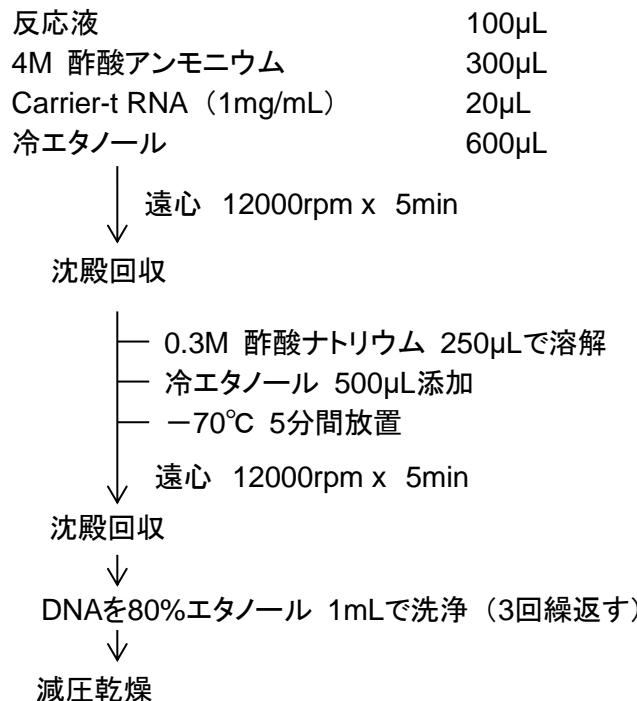
(1) 一本鎖および二本鎖5'突出末端の場合

脱リン酸化DNA	5～20pmol
10×Protruding End Kinase Buffer	10μL
[γ - ³² P]ATP (3.7GBq/mL)	10μL
PNK (10units/μL)	2μL
<hr/>	
Total Volume	100μL
↓	
37°C 1時間 反応	

(2) 平滑末端および3'突出末端の場合

脱リン酸化DNA	5～20pmol
<u>Denaturation Buffer</u>	75μL
↓	
90°C 2分間 加熱	
↓	
急冷後、直ちに次の試薬添加	
10×Blunt End Kinase Buffer	10μL
[γ - ³² P]ATP (3.7GBq/mL)	10μL
PNK (10units/μL)	2μL
<hr/>	
Total Volume	100μL
↓	
37°C 1時間 反応	

②標識DNAの抽出



3. T4 Polynucleotide Kinaseによるオリゴヌクレオチドの標識法

オリゴヌクレオチド	10pmol *1
10xProtruding End Kinase Buffer	1μL
[γ - ³² P]ATP (111TBq/mmol)	3μL *2
PNK	10units
<u>D.W.</u>	
Total Volume	10μL
↓	
37°C 30分間 反応	
↓	
95°C 2~3分間 反応停止 *3	

* 1. オリゴヌクレオチドの量と長さ 15mer 50ng ≈ 10pmol
 17mer 56ng ≈ 10pmol
 20mer 66ng ≈ 10pmol
 24mer 80ng ≈ 10pmol

* 2. ATPの量

オリゴヌクレオチドと等モルかそれ以上のATPが必要です。下表をご参考にして下さい。

111TBq/mmol , 370KBq/μL	3μL
222TBq/mmol , 370KBq/μL	6μL

* 3. この条件で約10⁶cpm/pmol以上の5'末端をラベルしたオリゴヌクレオチドが得られます。



【製造・販売元】

—価格・在庫に関するお問い合わせ—

東洋紡株式会社 バイオテクサポート事業部（大阪）

TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833

E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号

大阪梅田ツインタワーズ・サウス

東洋紡株式会社 バイオテクサポート事業部（東京）

〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目 17 番 10 号 住友商事京橋ビル

TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951

E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

—製品の内容・技術に関するお問い合わせ—

テクニカルライン

TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833

開設時間 9:00～12:00 , 13:00～17:00 (土日祝日、休日を除く)

E-mail : tech_osaka@toyobo.jp

[URL] <https://lifescience.toyobo.co.jp/>