



T4 Polynucleotide Kinase

([Code No. PNK-111](#))

取扱説明書

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

TOYOBO

1. 添付バッファー

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

500mM	Tris-HCl, pH8.0
100mM	MgCl ₂
50mM	Dithiothreitol

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

500mM	Tris-HCl, pH9.5
100mM	MgCl ₂
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

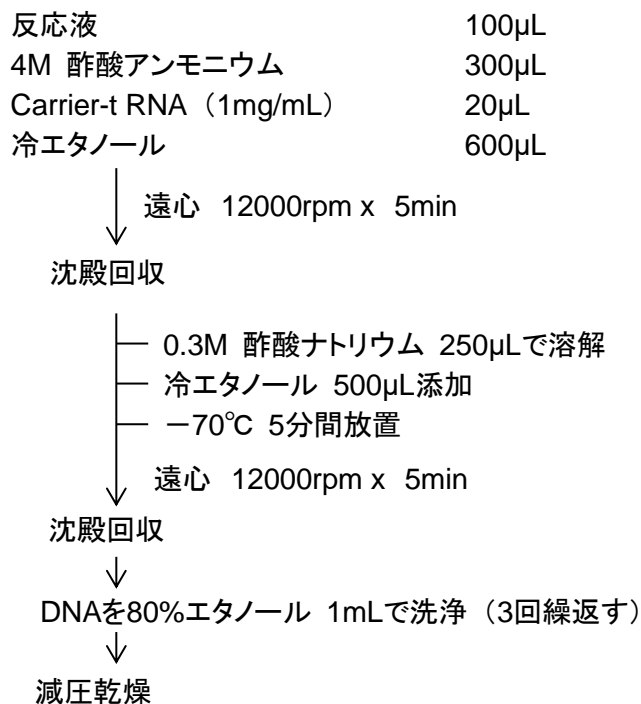
(1) 一本鎖および二本鎖5'突出末端の場合

脱リン酸化DNA	5~20pmol
10xProtruding End Kinase Buffer	10μL
[γ - ³² P]ATP (3.7GBq/mL)	10μL
PNK (10units/μL)	2μL
D.W.	
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
Denaturation Buffer	75μL
↓	
90°C 2分間 加熱	
↓	
急冷後、直ちに次の試薬添加	
10xBlunt End Kinase Buffer	10μL
[γ - ³² P]ATP (3.7GBq/mL)	10μL
PNK (10units/μL)	2μL
D.W.	
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
10×Protruding End Kinase Buffer	1μL
[γ - ³² P]ATP (111TBq/mmol)	3μL *2
PNK	10units
D.W.	
Total Volume	10μL

↓

37℃ 30分間 反応

↓

95℃ 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 \approx 10pmol |
| 17mer | 56ng \approx 10pmol |
| 20mer | 66ng \approx 10pmol |
| 24mer | 80ng \approx 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 10^6 cpm/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/>