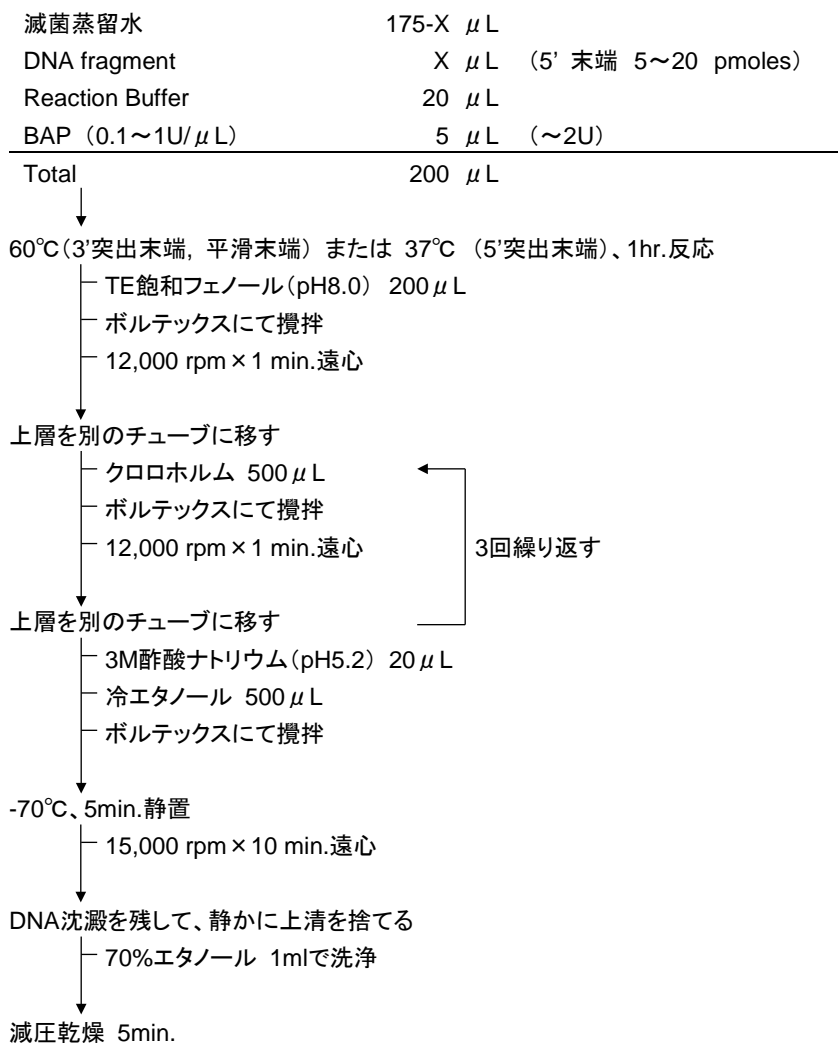


E.coli Alkaline Phosphatase 取扱説明書

1. 添付試薬組成

- ・10 × Reaction Buffer for BAP
 - 500mM Tris-HCl(pH 8.0)
 - 10mM MgCl₂

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

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

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、休日を除く)
E-mail:tech_osaka@toyobo.jp

バイオテクサポート事業部(東京)
TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951
E-mail: order_lifescience@toyobo.jp

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

E.coli Alkaline Phosphatase Manual

1. Composition of Supplied Reagent:

- 10 × Reaction Buffer for BAP
 - 500mM Tris-HCl (pH 8.0)
 - 10mM MgCl₂

2. Dephosphorylation of DNA fragments by BAP

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

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

— Add 200 μ 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 μ 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 μ L of 3M Na-Acetate (pH5.2)

— Add 500 μ 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

Biotech support Department

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

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