

T4 Polynucleotide Kinase

Code No.2021A

Size : 1000 units

Shipping at – 20°C

Store at – 20°C

Supplied Reagent :

10X T4 Polynucleotide Kinase Buffer 1 ml

Lot No.

Concentration : units/μl

Volume : μl

Expiration Date :

Description : T4 Polynucleotide Kinase catalyzes the transfer of the γ -phosphate of ATP to the 5'-OH termini of polynucleotides. This reaction is reversible. In the presence of ATP, 5'-OH termini are phosphorylated (phosphorylation reaction), and in the presence of ADP, 5'-P termini are dephosphorylated. By adding [γ -³²P] ATP in the latter reaction mixture, phosphorylation reaction also occurs at the same time to exchange 5'-P termini with labeled phosphate (phosphate exchange reaction).

Storage Buffer :

50 mM	Tris-HCl, pH7.5
50 mM	KCl
1 mM	DTT
0.1 μM	ATP
50%	Glycerol

Source : *Escherichia coli* carrying the plasmid encoding T4 pse T gene

Unit definition : One unit is the amount of the enzyme that incorporates 1 nmol of [³²P] from [γ -³²P]ATP into acid-insoluble form in 30 minutes at 37°C and pH 7.6, with calf thymus DNA activated by micrococcal nuclease as the substrate.

Reaction mixture for unit definition :

50 mM	Tris-HCl, pH 7.6
10 mM	MgCl ₂
1 mM	DTT
100 μM	[γ - ³² P] ATP
0.2 mg/ml	5'-OH DNA

Purity : Nuclease activity is not detected in either of the following cases, as judged from the agarose gel electrophoresis pattern :

1. After incubation of 1 μg of λ -Hind III fragments with 10 units of this enzyme for 16 hours at 37°C .
2. After incubation of 1 μg of 16S and 23S rRNA with 5 units of this enzyme for 16 hours at 37°C .

Applications :

- Labeling of 5'-termini of DNA and RNA.
- Phosphorylation of 5'-termini of synthetic DNA linkers

Properties :

- Molecular Weight : approx. 140,000
- Subunit : four subunits, each with a MW of 33,000. This enzyme forms tetramers when it activates.
- Cofactor : It requires Mg²⁺ for its activity and SH reagents such as DTT.
- Inhibitor : It is inhibited 50% by 7 mM phosphate or pyrophosphate, or sodium phosphate, and 75% by 7 mM ammonium sulfate.

Composition of Supplied Reagents (Store at -20°C) :

10X T4 Polynucleotide Kinase Buffer	
500 mM	Tris-HCl, pH8.0
100 mM	MgCl ₂
50 mM	DTT

- * The supplied buffer gives the different composition from that used for the unit definition. The supplied buffer has the general composition applicable to the reactions of transferring phosphate of single- of double-stranded dephosphorylated nucleotide with 5'-protruding end.

Application Example :

5'-termini labeling by transferring phosphate

10X T4 Polynucleotide Kinase Buffer	5 μl
dephosphorylated oligonucleotide	1-50 pmol
111-185 TBq/mmol [γ - ³² P] ATP (3000-5000 Ci/mmol)	0.37-3.7 MBq (10-100 μCi)
T4 Polynucleotide Kinase	5-20 units
dH ₂ O	up to 50 μl



Incubate at 37°C for 30 min.

The above protocol can be applicable when using oligonucleotide with blunt or 3'-protruding end, however, the labeling efficiency in that case may be lower than that in a reaction using single-stranded nucleotide or one with 5'-protruding end.

In the case of phosphorylation without labeling, please add ATP at the final concentration of 1 mM to the reaction mixture instead of [γ -³²P] ATP.

References :

- Folk, W. R. (1982) in *Gene Amplification and Analysis* (Chirikjian, J. G. and Papas, T. S. eds.) **2**, 299-311, Elsevier, Amsterdam.
- Midgley, C. A. and Murray, N. E. (1985) *EMBO J.*, **4**, 2695-2703.
- Richardson, C. C. (1971) *Procedures in Nucleic Acids Res.*, **2**, 815-826.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TAKARA BIO INC. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 543 7247 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All marks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

T4 Polynucleotide Kinase

Code No.2021A

Size : 1000 units

Shipping at - 20°C

Store at - 20°C

添付試薬：

10 × T4 Polynucleotide Kinase Buffer 1 ml

Lot No.

濃度： (英文面をご覧ください。)

容量： (英文面をご覧ください。)

品質保証期限： (英文面をご覧ください。)

● 製品説明

T4 Polynucleotide Kinase は、DNA または RNA の 5'-末端に ATP の γ 位のリン酸基を転移する酵素である。ATP の存在下では 5'-OH 末端のリン酸化反応が起こる (フォワード反応) が、5'-P 末端が基質の場合、ADP が存在すると逆反応が起こり、5' 末端の脱リン酸化が起こる。このとき同時に標識した ATP を入れておくと、フォワード反応も同時に起こり 5' 末端が標識されたものと交換される (交換反応)。

● 形状

50 mM	Tris-HCl, pH7.5
50 mM	KCl
1 mM	DTT
0.1 μ M	ATP
50%	グリセロール

● 起源

Escherichia coli carrying the plasmid encoding of T4 pse T gene

● 活性の定義

Micrococcal nuclease で活性化した仔牛胸線 DNA を基質として 37°C、pH7.6 において、30 分間に 1 nmol の $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ ATP を酸不溶性沈殿物に取り込む酵素活性を 1 U とする。

● 活性測定用反応液組成

50 mM	Tris-HCl, pH 7.6
10 mM	MgCl ₂
1 mM	DTT
100 μ M	$[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ ATP
0.2 mg/ml	5'-OH DNA

● 純度

- 10 U の本酵素と、1 μ g の λ -Hind III fragments とを 37°C、16 時間反応させても、DNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。
- 5 U の本酵素と 1 μ g の 16S および 23S rRNA とを 37°C、16 時間反応させても、RNA の電気泳動パターンに変化は起こらない。

● 用途

- DNA、RNA の 5' 末端標識
- 合成 DNA リンカーの 5' 末端のリン酸化

● 一般的性質

- 分子量：約 140,000
- サブユニット：分子量 33,000 のサブユニットホモオリゴマー。活性発現時はテトラマーであると推定される。
- 補因子：Mg²⁺ 要求性であり、また還元剤要求性 (5 mM DTT で最大活性を示す。) である。
- 阻害剤：7 mM リン酸、ピロリン酸、リン酸ナトリウムで 50% 阻害。7 mM 硫酸で 75% 阻害。

● 添付試薬組成 (保存：- 20°C)

10 × T4 Polynucleotide Kinase Buffer	
500 mM	Tris-HCl, pH8.0
100 mM	MgCl ₂
50 mM	DTT

* このバッファー系は、一本鎖および二本鎖 5' 突出末端を持つ脱リン酸化核酸のリン酸転移反応を行う実験でより一般的な組成となっており、活性測定系とは異なる。

● 使用例

リン酸転移反応による 5' 末端標識反応

10 × T4 Polynucleotide Kinase Buffer	5 μ l
脱リン酸化核酸	1 ~ 50 pmol
111 ~ 185 TBq/mmol $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ ATP (3000 ~ 5000 Ci/mmol)	0.37 ~ 3.7 MBq (10 ~ 100 μ Ci)
T4 Polynucleotide Kinase	5 ~ 20 units
dH ₂ O	up to 50 μ l

↓
37°C、30 分インキュベートする

上記プロトコールは、末端の形状が 3' 突出あるいは平滑末端の場合にも応用できるが、標識効率率は 5' 突出末端、一本鎖 oligonucleotide の場合に比べて低くなる。

* 標識をせずにリン酸化をおこなう場合は $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ ATP の代りに反応液に終濃度 1 mM になるように ATP を加える。

● 参考文献

- Folk, W.R. (1982) *Gene Amplification and Analysis* (Chirikjian, J.G. and Papas, T.S. eds.) 2, 299-311, Elsevier, Amsterdam.
- Midgley, C.A. and Murray, N.E. (1985) *EMBO J.*, 4, 2695-2703
- Richardson, C.C. (1971) *Procedures in Nucleic Acids Res.*, 2, 815-826.

● 注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。ライセンスに関する最新情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201206Da