

Terminal Deoxynucleotidyl Transferase

Code No. 2230A 容量： 300 U
濃度： 14 U/ μ l

添付試薬：

5 × Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Buffer 1 ml
0.1% BSA 1 ml

● 製品説明

Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT) は反応に鋳型を必要とせず、一本鎖または二本鎖 DNA の 3'-OH 末端にデオキシヌクレオチドを重合する反応を触媒する¹⁾。プライマーとなるには最低3塩基以上のオリゴデオキシヌクレオチドが必要である。

● 形状

60 mM	リン酸カリウム緩衝液 (pH7.2)
150 mM	KCl
1 mM	DTT
50%	グリセロール

● 保存 - 20°C

● 起源

E. coli carrying the plasmid which encodes the gene of terminal deoxynucleotidyl transferase

● 一般的性質

分子量 60,000
至適 pH pH7.2
補因子 Mg²⁺、Mn²⁺、Co²⁺等の二価イオンのうちいずれかを要求する。
その他 ヌクレオチドアナログ (5-methyl-dCTP、6-O-methyl-dGTP 等) も基質となり得る。ジデオキシチミジン 3 リン酸やコルディセピン 3 リン酸はターミネーターとなる。

● 活性の定義

DNase 処理および熱変性した仔牛胸腺 DNA (活性化仔牛胸腺 DNA) をイニシエーターとして用い、37°C、pH7.2 において 1 時間に 1 nmol の [³H] dATP 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

100 mM	カコジル酸ナトリウム緩衝液 (pH7.2)
8 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
0.024%	ウシ血清アルブミン
160 μ g/ml	活性化仔牛胸腺 DNA
0.5 mM	[³ H] dATP

● 品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

● 用途

- Okayama-Berg 法によるベクター cDNA に相補的なホモポリマーの付加³⁾
- dNTP または ddNTP による DNA の 3' 末端標識

● 添付試薬組成 (保存：-20°C)

- 5 × TdT Buffer
500 mM HEPES (pH7.2)
40 mM MgCl₂
0.5 mM DTT
- 0.1% BSA (別添)

添付バッファーの組成は活性測定系とは異なりますが、DNA の 3' 末端への塩基の付加反応に一般的な組成となっています。

● 使用例 (dGTP を用いたホモポリマーの Tailing 反応)

- 次の反応液を調製する。

DNA	4 ~ 5 pmol (3' 末端)
5 × TdT Buffer	10 μ l
0.1% BSA	5 μ l
dGTP	0.05 ~ 0.5 (final) mM
TdT	10 ~ 15 U
滅菌精製水	
Total	50 μ l

- 37°C、30 分インキュベートする。
- 5 μ l の 5 M NaCl、1 μ l の 0.5 M EDTA (pH8.0) を加える。
- フェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール (25 : 24 : 1) 50 μ l で抽出後、エタノール沈殿を行う。

● 使用上の注意

TdT は Okayama-Berg 法をはじめとして、ベクターと cDNA に相補的なホモポリマーを付加する反応に広く用いられている²⁾。この場合の反応条件は、付加する塩基の種類 (dATP、dTTP、dCTP、dGTP)、バッファー中の二価イオンの種類 (Mn²⁺、Co²⁺、Mg²⁺)、および付加される DNA の末端構造 (突出 3'-OH 末端、平滑末端、陥没 3'-OH 末端) 等に影響され、状況に応じた最適条件を見つけることが必要である。

また、15 ~ 40 base のデオキシヌクレオチドを付加する最適条件は、突出 3'-OH 末端の場合 dNTP と DNA のモル比が 20 : 1、陥没 3'-OH 末端の場合、100 : 1 である。

● 参考文献

- Bollum F J. in *The Enzymes*. (Boyer P D, ed.) (1974) **10**: 145-171
- Deng G and Wu R. *Methods in Enzymology*. (1983) **100**: 96-116.
- Okayama H and Berg P. *Mol Cell Biol*. (1982) **2**: 161-170.

● 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。