

Code No. 316-04011

容量 50  $\mu$ g

濃度 1  $\mu$ g/ $\mu$ l

分子量 89.3 kDa

起源 *Thermus aquaticus*

保存  $-20^{\circ}\text{C}$

## 形状

100 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl (pH7.5), 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% Glycerol

## 酵素反応条件

100 mM KCl, 50 mM Tris-HCl (pH8.5 at  $25^{\circ}\text{C}$ ), 20 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 2% Glycerol  
反応温度:  $65^{\circ}\text{C}$

## ■添付反応バッファー(凍結保存)

・10  $\times$  Taq MutS Buffer 1 ml  
(組成:酵素反応条件の10倍濃度)

## 結合試験

反応溶液 20  $\mu$ l 中、本品 0.5  $\mu$ g は、1塩基欠失のある 36 bp 合成 100 ng と  $65^{\circ}\text{C}$ 、30 分間で 50%以上結合することができる。

## 純度

・本品 3  $\mu$ g とプラスミド pBR322 0.5  $\mu$ g を、 $37^{\circ}\text{C}$ で 16 時間反応させた後、アガロースゲル電気泳動(0.8% Agarose S)を行った結果、oc-DNA の増加は認められない。

・本品 3  $\mu$ g と  $\lambda$  DNA 0.5  $\mu$ g を  $37^{\circ}\text{C}$ で 16 時間反応させた後、アガロースゲル電気泳動(0.8% Agarose S)を行った結果、 $\lambda$  DNA の分解は認められない。

・本品 3  $\mu$ g と基質 RNA 2  $\mu$ g を  $37^{\circ}\text{C}$ で 16 時間反応させた後、アガロースゲル電気泳動(2% Agarose S)を行った結果、RNA の分解は認められない。

## 参考文献

- 1) Biswas, I. and Hsieh, P.: *J. Biol. Chem.*, 271 (9), 5040-5048 (1996)
- 2) Biswas, I. and Hsieh, P.: *J. Biol. Chem.*, 272(20), 13355-13364 (1997)
- 3) Takamatsu, S., Kato, R. and Kuramitsu, S.: *Nucleic Acids Res.*, 24 (4), 640-647 (1996)
- 4) Whitehouse, A., Deeble, J., Parmar, R., Taylor, G. R., Markham, A. F. and Meredith, D. M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 233, 834-837 (1997)
- 5) Lishanski, A., Ostrander, E. A. and Rine, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 2674-2678 (1994)
- 6) Wagner, R., Debbie, P. and Radman, M.: *Nucleic Acids Res.*, 23 (19), 3944-3948 (1995)

## 使用例

### PCR products を用いた欠失部位の検出試験

正常な配列(N: normal)に対して 2 塩基の欠失を生じた変異配列(M: mutant)を持つプラスミドを作製した。鋳型として、N または M のみを用いたものと、N と M を混ぜたものを用いて各々PCR を行った。PCR 終了後、変性とアニーリングを行い、直接 *Taq* MutS(1  $\mu$ g)を加えて 65°Cにて 30 分間反応させ、電気泳動を行った。PCR で増幅する長さを 60 bp, 100 bp, 200 bp の 3 種類で行い、それぞれにおいて欠失部位を検出した。

Template DNA (N/M, N or M)	1 $\mu$ l
10 $\times$ Gene <i>Taq</i> Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP Mixture (2.5 mmol/l each)	4 $\mu$ l
Primer-forward (20 pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Primer-reverse (20 pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene <i>Taq</i> (5 units/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	37.5 $\mu$ l
<hr/>	
Total	50 $\mu$ l

↓

94°C 1 min.  
94°C 10 sec.  
60°C 15 sec. } 25 cycles  
72°C 20 sec.  
94°C 5 min. (PCR products の変性)  
72°C 30 min. (再アニーリング)  
4°C

↓

PCR products 10  $\mu$ l + *Taq* MutS 1  $\mu$ l (1  $\mu$ g/ $\mu$ l)

↓

65°C, 30 min.

↓

+ 2  $\mu$ l Loading buffer

(0.02% Bromophenol blue, 0.02% Xylene cyanol  
FF, 50% Glycerol, 200 mM Tris-HCl pH7.5)

↓

Polyacrylamide gradient gel で電気泳動

#### Polyacrylamide gradient gel

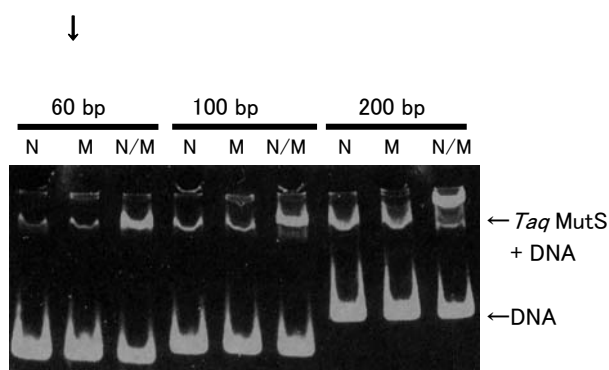
- 4~10% native polyacrylamide
- 1  $\times$  TAE
- 0.1 mM MgCl<sub>2</sub>

#### 電気泳動 Running buffer

- 1  $\times$  TAE
- 0.1 mM MgCl<sub>2</sub>

↓

SYBR® Gold にて染色



(その他のデータについてはニッポンジーンのホームページをご覧ください)

お問い合わせ先

株式会社ニッポンジーン

TEL 076-451-6548

www.nippongene.com

本品は、試薬(試験研究用)として販売しているものです。  
医薬品の用途には使用しないでください。