

F 효소

F-a 제한효소

제한효소의 사용에 관하여

Universal Buffer · Basal Buffer에 의한 제한효소 활성 표시 시스템
 Double Digestion 용 권장 Universal Buffer
 제한효소 Genome DNA Analysis Grade
 Ligation-Recutting 효율 품질규격
 pKF3 cloning 테스트
 제한효소 활성에 대한 methyl화의 영향
 제한효소의 Star 활성
 pBR322, pUC19의 완전분해에 필요한 반응시간
 pKF3의 완전분해에 필요한 반응시간
 16시간 반응에서 완전분해에 필요한 효소량
 장시간 제한효소 반응시의 잔존활성
 각종 실험처리 후의 잔존활성
 Basal buffer 조성
 Basal buffer의 염농도가 효소활성에 미치는 영향
 제한효소 형상 일람

F-4
F-6
F-8
F-9
F-10
F-11
F-12
F-16
F-17
F-18
F-19
F-20
F-21
F-22
F-24
F-28

Bgl II
Bln I (*Avr* II)
*Bme*T110 I (*Ava* I)
*Bmg*T120 I (*Cfr*131, *Asu* I)
*Bpu*1102 I (*Esp* I)
*Bse*P I → *Bss*H II
*Bsp*M II → *Acc* III, *Aor*13HI
*Bsp*1286 I (*Sdu* I)
*Bsp*1407 I
*Bsp*T104 I (*Asu* II, *Nsp* V)
*Bsp*T107 I (*Hgi*C I)
*Bss*H II (*Bse*P I)
*Bst*E II → *Bst*P I, *Eco*O650 I
*Bst*1107 I (*Sau* I)
Cau II → *Bcn* I
*Cfr*I → *Eae* I
*Bst*P I (*Bst*E II, *Eco*O650 I)
*Bst*X I
*Cfr*10 I
*Cfr*131 → *Bmg*T120 I
*Cl*a I
Cpo I (*Rsr* II)
Dra I (*Aha* III)
Dra II → *Eco*O109 I
Eae I (*Cfr* I)
*Eam*1105 I
*Eco*52I (*Xma* III)
*Eco*81 I (*Sau* I)
Esp I → *Bpu*1102 I
*Eco*O65 I (*Bst*E II, *Bst*P I)
*Eco*O109 I (*Dra* II)
*Eco*R I
*Eco*R II → (*Bci*T130 I, *Mva* I)
*Eco*R V
*Eco*T14 I (*Sty* I)
*Eco*T22 I (*Ava* III)
*Eco*47 III → *Aor*51H I
Fba I (*Bcl* I)
*Fnu*D II → *Acc* II
Fok I
Hae II
Hae III
Hap II (*Hpa* II, *Msp* I)
*Hgi*C I → *Bsp*T107 I
*Hgi*J II → *Ban* II

F-33
F-33
F-33
F-34
F-34
F-35
F-29
F-34
F-34
F-35
F-35
F-35
F-35
F-35
F-35
F-35
F-32
F-37
F-35
F-36
F-36
F-34
F-36
F-36
F-37
F-38
F-37
F-37
F-38
F-38
F-38
F-34
F-38
F-38
F-38
F-39
F-32
F-39
F-39
F-39
F-39
F-31
F-40
F-29
F-40
F-40
F-40
F-41
F-35
F-32

제한효소

Aat II
Acc I
Acc II (*Fnu*D II)
Acc III (*Bsp*M II)
Acl I → *Psp*1406 I
*Acy*I → *Hin*1 I
Afa I (*Rsa* I)
Afl II
Aha III → *Dra* I
Alu I
*Aor*13 HI (*Bsp*M II, *Acc* III)
*Aor*51H I (*Eco*47 III)
Apa I
*Apa*L I
Asu I → *Bmg*T120 I
Asu II → *Bsp*T104 I
Ava III → *Eco*T22 I
*Avi*I → *Nsb* I
Avr II → *Bln* I
Bal I
*Bam*HI
Ban II (*Hgi*J II)
*Bci*T130 I (*Eco*R II, *Mva* I)
Bcn I (*Cau* II)
*Bbi*II → *Hin*1 I
Bcl I → *Fba* I
Bfa I → *Xsp* I
Bgl I

F-29
F-29
F-29
F-29
F-47
F-41
F-30
F-30
F-37
F-30
F-30
F-30
F-31
F-31
F-31
F-34
F-35
F-39
F-46
F-33
F-31
F-32
F-32
F-32
F-32
F-32
F-41
F-40
F-52
F-33

F

효소

<i>Hha</i> I	F-41	<i>Sfi</i> I	F-49
<i>Hin</i> I I (<i>Acy</i> I, <i>Bbi</i> II)	F-41	<i>Sma</i> I	F-49
<i>Hinc</i> II (<i>Hind</i> II)	F-41	<i>Smi</i> I (<i>Swa</i> I)	F-50
<i>Hind</i> II→ <i>Hinc</i> II	F-41	<i>Sna</i> B I	F-50
<i>Hinf</i> I	F-42	<i>Spe</i> I	F-50
<i>Hind</i> III	F-42	<i>Sph</i> I	F-50
<i>Hpa</i> I	F-42	Sse8387 I	F-50
<i>Hpa</i> II→ <i>Hap</i> II, <i>Msp</i> I	F-41	<i>Ssp</i> I	F-51
<i>Kpn</i> I	F-42	<i>Stu</i> I	F-51
<i>Mae</i> I→ <i>Xsp</i> I	F-52	<i>Sty</i> I→ <i>Eco</i> T14 I	F-39
<i>Mbo</i> I (<i>Sau</i> 3A I)	F-43	<i>Taq</i> I (<i>Tth</i> HB I)	F-51
<i>Mbo</i> II	F-43	<i>Tth</i> HB I→ <i>Taq</i> I	F-51
<i>Mfe</i> I→ <i>Mun</i> I	F-44	<i>Tth</i> 111 I	F-51
<i>Mfi</i> I (<i>Xho</i> II)	F-43	<i>Var</i> 91 I (<i>Pfi</i> M I)	F-51
<i>Mlu</i> I	F-43	<i>Vsp</i> I→ <i>Psh</i> B I	F-47
<i>Msp</i> I (<i>Hpa</i> II, <i>Hap</i> II)	F-44	<i>Vpa</i> K11B I (<i>Ava</i> II)	F-52
<i>Mst</i> I→ <i>Nsb</i> I	F-46	<i>Xba</i> I	F-52
<i>Mun</i> I (<i>Mfe</i> I)	F-44	<i>Xho</i> I	F-52
<i>Nae</i> I	F-44	<i>Xho</i> II→ <i>Mfi</i> I	F-43
<i>Nco</i> I	F-45	<i>Xma</i> III→ <i>Eco</i> 52I	F-38
<i>Nde</i> I	F-45	<i>Xsp</i> I (<i>Bfa</i> I, <i>Mae</i> I)	F-52
<i>Nhe</i> I	F-45		
<i>Not</i> I	F-45	F-b mRNA Interferase	
<i>Nru</i> I	F-46	mRNA Interferase -MazF	F-53
<i>Nsb</i> I (<i>Avi</i> II, <i>Mst</i> I)	F-46		
<i>Nsp</i> V→ <i>Bsp</i> T104 I	F-35	F-c 수식 효소	
<i>Pfi</i> M I→ <i>Var</i> 91 I	F-51	응도일람	F-54
<i>Pma</i> C I	F-46	순도일람	F-55
<i>Psh</i> A I	F-46	Ligases	
<i>Psh</i> B I (<i>Vsp</i> I)	F-47	T4 DNA Ligase	F-56
<i>Psp</i> 1406 I (<i>Acl</i> I)	F-47	<i>E. coli</i> DNA Ligase	F-57
<i>Pst</i> I	F-47	T4 RNA Ligase	F-58
<i>Pvu</i> I	F-47	Polynucleotide Kinases	
<i>Pvu</i> II	F-48	T4 Polynucleotide Kinase	F-59
<i>Rsa</i> I→ <i>Afa</i> I	F-30	Alkaline Phosphatases	
<i>Rsr</i> II→ <i>Cpo</i> I	F-36	Alkaline Phosphatase (BAP)	F-60
<i>Sac</i> I	F-48	Alkaline Phosphatase (Calf intestine) (CIAP)	F-61
<i>Sac</i> II	F-48	Alkaline Phosphatase (Shrimp) (SAP)	F-61
<i>Sal</i> I	F-48	DNA Polymerases	
<i>Sau</i> I→ <i>Eco</i> 81 I	F-38	DNA Polymerase I (<i>E. coli</i>)	F-62
<i>Sau</i> 3A I (<i>Mbo</i> I)	F-49	T4 DNA Polymerase	F-63
<i>Sca</i> I	F-49	Klenow Fragment	F-64
<i>Scl</i> I→ <i>Bsp</i> 1286 I	F-34	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase	F-65

Reverse Transcriptase

PrimeScript Reverse Transcriptase	F-66
Reverse Transcriptase XL (AMV)	F-67
Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit	F-67
Reverse transcriptase M-MLV (RNaseH free)	F-68
역전사 반응을 위한 Primer	F-68

RNA Polymerases

SP6 RNA Polymerase	F-69
T7 RNA Polymerase	F-70
Poly (A) Polymerase	F-70

Nucleases

S1 Nuclease	F-71
Mung Bean Nuclease	F-72
BAL 31 Nuclease	F-72
Exonuclease I	F-73
Exonuclease III	F-73
Micrococcal Nuclease	F-74
Recombinant DNase I (RNase-free)	F-74
Ribonuclease H (RNase H)	F-75
Cryonase Cold - active Nuclease	F-75

기타 효소

DNA Topoisomerase I	F-76
Ribonuclease Inhibitor (Porcine liver 유래)	F-77
Recombinant RNase Inhibitor	F-77

Linkers & Adapters

Phosphorylated Linkers	F-78
Adaptors	F-78
<i>Eco</i> R I- <i>Not</i> I- <i>Bam</i> H I Adaptor	F-78

뉴클레오타이드 & 기질 DNA

Deoxyribonucleoside 5' - Triphosphates	F-79
dNTP mixture	F-79
Ribonucleoside 5' - Triphosphates	F-79

F-d Protease (아미노산 서열 해석)

<i>Pfu</i> N-acetyl Deblocking Aminopeptidase (Ac-DAP)	F-80
<i>Pfu</i> Pyroglutamate Aminopeptidase	F-80
<i>Pfu</i> Methionine Aminopeptidase	F-81
<i>Pfu</i> Protease S	F-81
<i>Pfu</i> Aminopeptidase I	F-81
Asparaginylendopeptidase	F-82
Arginylendopeptidase (Mouse Submandibular Protease)	F-82
Endoproteinase Asp-N	F-82

제한효소의 사용에 관하여

현재까지 발견된 제한효소는 반응에 필수적인 인자와 절단부위의 특성 등에 따라 다음의 3 가지 형태로 구분한다.

대분류	반응필수인자	절단부위	효소 예
I형	ATP, S-adenosyl methionine, Mg ²⁺	인식부위와 절단부위가 다르고 절단부위도 일정치 않음	<i>EcoB</i> , <i>EcoK</i>
II형	Mg ²⁺	인식부위 내 또는 그 근방의 특정부위를 절단	<i>EcoRI</i> , <i>BamHI</i>
III형	ATP, Mg ²⁺	인식부위와 절단부위는 다르나 특정부위를 절단	<i>EcoPI</i> , <i>Hinf III</i>

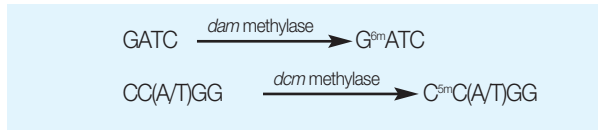
이 중 유전자공학 실험에 이용하고 있는 것은 일반적으로 II형 효소로서, 현재 시판되고 있는 효소는 전부 II형에 속한다. 제한효소는 반응조건, template DNA의 종류에 따라 절단 부위, Star 활성의 출현 빈도 등의 차이가 관찰되며, 그 정도도 효소에 따라 다르다. 따라서 제한효소를 사용할 때는, 이 같은 요인에 충분히 주의하여, 사용목적에 맞게 정확하게 절단할 수 있도록 하여야 한다. 다음은 제한효소 사용에 있어서 주의할 점을 소개한다.

1) Methyl화의 영향

DNA methylase 유전자를 갖고 있는 숙주균으로부터 조제한 DNA는 염기의 일부가 methyl화 되어 있어, 해당 서열을 인식 절단하는 제한효소를 사용하여도 거의 절단되지 않는다. methyl화되는 부위는 template DNA의 종류, 숙주의 종류에 따라 다르다. 예를 들면, 대장균의 경우에는 숙주의 종류에 따라 methylase의 영향을 받는다. 통상 형질전환에 자주 이용하는 균주-C600, HB101, JM109 등은 *dam*, *dcm*을 모두 가지고 있으므로 이들 균주로부터 조제한 DNA를 사용할 때는 주의가 필요하다.

또 동물 유래 DNA의 경우, CG서열은 5mCG로 되어 있는 경우가 많고, 식물 유래 DNA의 경우는 CG 또는 CNG서열이 5mCG 또는 5mCNG로 되어 있는 경우가 많다.

보다 자세한 내용은 「제한효소 활성에 대한 methyl화의 영향」의 표 (F-12 페이지)를 참조하기 바람.



2) Star 활성

제한효소 중에는 template이 되는 DNA에 대하여, 특정한 반응 조건 하에서 사용하면 특이성이 저하되어 본래의 인식서열과 다른 염기서열을 절단하는 것이 있다. 이 같은 현상을 제한효소의 Star 활성이라고 한다. Star 활성의 출현빈도는 효소, template DNA, 반응조건 등에 따라 다르나, 거의 모든 제한효소가 Star 활성을 갖고 있다고 해도 과언이 아니며, 인식서열 특이성의 저하 외에 DNA에 부분적으로 nick이 생기는 Nick 활성이 관찰되기도 한다.

Star 활성을 최대한 억제하기 위해서는 반응성이 저하되더라도 일반적으로 낮은 글리세린 농도, 중성 pH, 높은 염농도 조건에서 반응하는 것이 좋다.

보다 자세한 것은 「제한효소의 Star 활성」의 표 (F-16 페이지)를 참조하기 바람.

3) 부분분해

template DNA에 대해 절단이 예상되는 제한효소를 사용하여도 충분히 절단되지 않는 경우, 상기의 1), 2)와 효소의 실활 외에 DNA의 순도, 반응 저해물질의 영향, template DNA의 종류 등이 관여할 때도 있다. 특히 DNA의 종류에 따라 사이즈와 인식부위가 다르며, 완전분해에 필요한 효소량도 변하고, 그 값으로부터 계산되는 「1 μg DNA의 완전분해에 필요한 제한효소의 추정량」과 「실제량」이 각각의 효소에 따라 차이가 생긴다. 이런 차이는 효소와 인식서열 주변의 고차구조와의 상대적인 성질에 따른 것으로 생각되며, 실제로 pBR322 DNA에는 제한효소 *Nae I*으로 절단되지 않는 부위가 있다 (Site preference). 또, 반응액 조성(spermidine의 첨가)에 의해 절단되는 순서가 바뀌는 경우도 있다.

[참고문헌]

"DNA and spermidine provide a switch mechanism to regulate the activity of restriction enzyme *Nae I*", Conrad, M. and Topal, M. D. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 9707-9711.

4) DNA 결합단백질

제한효소로 반응한 후 전기영동하였을 때 밴드가 확인되지 않거나, 밴드의 퍼짐 현상이 일어나거나, 밴드의 이동도가 이상할 경우 등의 문제가 발생할 때가 있다. 이는 효소 단백질 자신이나 다른 단백질이 DNA에 결합하고 있기 때문에 DNA가 gel 속으로 들어가지 않거나, DNA가 ethidium bromide에 염색되지 않기 때문이다. 이 같은 현상이 관찰될 때는 SDS 등의 변성제를 최종농도 0.1%가 되도록 시료에 첨가하여 전기영동하면 개선되는 경우도 있다.

5) 기타

제한효소의 안정기간은 기본적으로 품질검정 후 약 1 년간으로 정하고 있으나 거의 모든 효소가 그 기간이 경과해도 급격히 실활하지 않는다. 따라서 구입 후 장기간 보관한 효소도 충분히 사용할 수 있으나, 이들 효소에 대해서는 사용 전에 역가검정을 실시한 후 사용하는 것이 좋다. 또 보존 중에 효소가 동결되었을 때도 거의 모든 효소가 급격히 실활되지는 않으므로 위의 경우와 같이 사용 전에 역가검정을 실시한 후 사용하는 것이 좋다.

Q&A

Q-1 제한효소에는 각각의 Universal buffer에서의 상대활성을 표시하고 있으나, 첨부 버퍼보다 다른 버퍼가 높은 활성을 나타내는 경우가 있다 (예를 들면 *Hind III*의 첨부 버퍼는 M이지만, K buffer가 200%의 활성을 나타낸다). 이런 경우, 활성이 높은 버퍼를 사용해도 문제가 일어나지 않는가?

A-1 문제 없습니다. 첨부 버퍼는 활성 측정에 사용한 것으로 Basal buffer에 가까운 조성을 갖는 것을 선택하였으므로 반드시 가장 활성이 높은 버퍼라고는 말할 수 없습니다. 따라서 첨부된 것 이외의 버퍼를 사용하여도 좋으나 숫자에 ()가 된 것은 Star 활성 등의 영향을 받기 쉬우므로 사용하지 않는 것이 좋습니다.

Q-2 TaKaRa 제한효소 중에는 Basal buffer에 비하여 상대활성이 낮은 Universal buffer를 첨부하고 있는 효소가 있는데 이유는?

A-2 TaKaRa의 제한효소는 double digestion을 전제로 가능한 한 Universal buffer를 첨부하고 있습니다. L, M, H buffer는 주로 염농도가 다르므로 우선 낮은 염농도에서 한 개의 효소를 절단하고 다음에 염을 첨가하여 높은 염농도에서 두번째 효소로 절단하면 buffer를 교환할 필요가 없습니다. 5 종류의 Universal Buffer에서 상대활성이 그다지 높지 않은 효소에는 Basal buffer를 첨부하고 있습니다. 이 Basal buffer는 각 제한효소의 최적 buffer로 조성이 제한효소마다 다르므로 주의하시기 바랍니다.

■ 활성의 정의

제한효소 활성 1 U는, 각 효소 반응액 50 μ l 중 원칙적으로 37°C에서 1시간에 1 μ g의 λ DNA를 완전 분해하는 양으로 한다. 또 효소활성 측정에 사용한 template과 반응 온도는 각 효소마다 기재되어 있다. 한편 다른 Universal buffer에서의 상대활성은 F-6 페이지에 종합하여 정리하여 놓았다. 상대활성표에는 활성 측정 buffer와 사용 권장 buffer를 로 표시하여 놓았으므로 복수의 효소에 의한 절단 등의 반응에 유용하게 이용할 수 있다.

■ 순도검정

각 효소에 대하여 제조 lot 별로 아래의 항목을 기본적으로 검사하고 있다.

1. Overdigestion Test

각 정제효소에 대하여 template DNA (통상 λ DNA) 1 μ g 과 과량의 효소를 24 시간 반응시킨 후, agarose gel 전기영동 패턴에 의해 비특이적인 DNase의 유무를 판정한다.

2. Genome DNA Analysis

선정한 제한효소 (효소마다 표기)에 관하여 검사한다. 적당한 박테리아 genome DNA (agarose embedded, 0.5 μ g DNA/ 50 μ l gel)에 20~150 U의 제한효소를 첨가해 24 시간 반응한 후, pulsed-field 전기영동을 실시하여 DNA 전기영동 패턴의 변화 유무를 확인한다. 개요에 관하여는 F-9 페이지에 종합하여 정리해 놓았다.

3. Ligation-Recutting Test

template DNA에 대하여 우선 2~50배의 효소로 반응시킨 후 절단된 DNA를 회수하여 5' 말단 농도가 0.1~1.0 μ M이 되게 T4 DNA ligase buffer[66 mM Tris-HCl (pH 7.6), 6.6 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 0.4 mM ATP]에 용해한다. 적당량의 T4 DNA Ligase를 첨가하여 16°C, 1 시간 또는 16~18 시간 반응한다. DNA를 회수하여 제한효소 반응액에 용해한 후, 동일 제한효소로 재절단한다. 이상의 결과에 따라 ligase inhibitor, phosphatase, exonuclease의 유무를 판정하고 있다. 한편 ligation 효율, 재절단 효율에 관한 TaKaRa Bio의 품질규격에 대해서는 F-10 페이지에 종합적으로 정리하였다.

4. pKF3 Cloning Test

Enforcement cloning vector pKF3 DNA의 multi-cloning site에 1 개의 제한효소 절단부위를 갖는 제한효소에 대하여 체크하고 있다.

pKF3 DNA에 대하여 10배 과량의 제한효소로 반응시키고, 실험처리한 다음 절단된 DNA를 DNA Ligation Kit Ver.1 (Code 6021)를 사용해 16°C, 30 분간 반응한다. 이 반응액 일부를 TH2 competent cell에 형질전환하여 2 종류 (LB-Cm-Sm, LB-Cm)의 plate 위에서 37°C에서 2일간 배양한다. LB-Cm-Sm plate 위에 출현하는 colony의 유무에 따라 극히 미량의 exonuclease의 유무를 판정한다. 그 개요에 관하여는 F-11 페이지에 종합하여 기재하였다.

■ 보존 온도 · 보존 형상

각 제한효소는 모두 -20°C에서 보존한다 (단, Fse I, Aat II는 -80°C 동결 보존). 효소 모두 한 번 정도의 동결 용해는 효소활성에 영향을 미치지 않는다. 보존 형상에 관하여는 F-28 페이지에 그 보존 완충액과 조성을 종합 기재하였다.

■ 첨부 버퍼에 관하여

TaKaRa에서는 제한효소 활성측정에 이용하는 10×Buffer 와 10×Loading 버퍼를 첨부하고 있다.

Universal buffer · Basal buffer에 의한 제한효소 활성 표시 시스템

Takara Bio에서는 Universal buffer (5종 중 1종, ■)로 활성을 측정하여, 값을 표시하는 시스템을 채용하고 있다. 그 효소활성을 100%로 하였을 경우, 각 Universal buffer에서의 상대활성을 아래에 기재하고 있다. ()는 Star 활성 등의 영향을 받기 쉬운 버퍼를 나타낸다. 이같은 영향을 피하기 위해서는 가능한 한 ■나 □의 버퍼를 사용하는 것이 좋다. 단 *Acc* III, *Bal* I, *Bcn* I, *Bgl* I, *Bpu*1102 I, *Cfr*10 I, *Eam*1105 I, *Eco*52 I, *Nru* I, *Psh*B I, *Sna*B I, *Ssp* I, *Taq* I, *Vpa*K11B I (15 품목)는 Basal buffer를 사용한다. Basal buffer 조성은 각각의 제한효소에 따라 다르다 (각 Basal buffer의 조성은 F-22, 23 페이지 참조). 또, double digestion에 참고할 수 있도록, Universal buffer별로 사용권장 효소 (반응액별 상대활성 ■와 □효소)를 열거하였다. 단, 반응온도는 각 효소별로 표시하였다.

반응액별 상대활성

■ 첨부 · 활성측정 버퍼 □ 사용권장 버퍼 (Basal buffer의 조성은 각각의 제한효소에 따라 다르다 [F-22 페이지 참조])

제한효소	상대활성 (%)					
	L	M	H	K	T+BSA	Basal*1
<i>Aat</i> II	<20	<20	<20	<20	100	120
<i>Acc</i> I	20	100	<20	(<20)	160	80
<i>Acc</i> II	(260)	100	<20	20	200	160
<i>Acc</i> III	(<20)	(<20)	20	(80)	(<20)	100
<i>Afa</i> I	60	60	40	60	100	100
<i>Afl</i> II	20	80*2	<20	<20	140	120
<i>Alu</i> I	100	100	<20	40	200	120
<i>Aor</i> 13H I	<20	20	<20	80*2	80	100
<i>Aor</i> 51H I	80	100	<20	20	120	120
<i>Apa</i> I	100	<20	<20	<20	<20	120
<i>Apa</i> L I	100	20	<20	<20	120	120
<i>Bal</i> I	20	20	<20	<20	40	100
<i>Bam</i> H I	(<20)	<20	40	100	(<20)	80
<i>Ban</i> II	(120)	(120)	100	80	(100)	100
<i>Bci</i> T130 I	<20	(20)	80	100	20	100
<i>Bcn</i> I	<20	20	40	60	60	100
<i>Bgl</i> I	<20	<20	20	40	<20	100
<i>Bgl</i> II	<20	20	100	(100)	(60)	100
<i>Bln</i> I	<20	20	40	100	20	120
<i>Bme</i> T110 I	<20	<20	20	100	<20	140
<i>Bmg</i> T120 I	<20	<20	100	40	<20	240
<i>Bpu</i> 1102 I	<20	<20	<20	40	60	100
<i>Bsp</i> T104 I	100	60	<20	<20	100	120
<i>Bsp</i> T107 I	<20	20	80	100	20	100
<i>Bsp</i> 1286 I	100	20	<20	<20	60	100
<i>Bsp</i> 1407 I	20	60	20	20	100	100
<i>Bss</i> H II	100	100	60	20	140	100
<i>Bst</i> P I	(<20)	(60)	100	(100)	(100)	100
<i>Bst</i> X I	<20	40	100	<20	<20	120
<i>Bst</i> 1107 I	(<20)	60	100	100	40	100
<i>Cfr</i> 10 I	(<20)	(<20)	(<20)	40	(20)	100
<i>Cla</i> I	40	100	120	100	60	100
<i>Cpo</i> I	<20	<20	80	100	<20	100
<i>Dra</i> I	100	100	60	100	80	80
<i>Eae</i> I	60	100	<20	<20	120	160
<i>Eam</i> 1105 I	(<20)	(40)	20	40	(40)	100
<i>Eco</i> O65 I	(20)	(60)	60*2	40	40	100
<i>Eco</i> O109 I	100	60	<20	<20	100	160
<i>Eco</i> R I	(20)	(100)	100	(120)	(80)	120
<i>Eco</i> R V	(<20)	(40)	100	(120)	(40)	100
<i>Eco</i> T14 I	(<20)	(40)	100	120	(60)	100
<i>Eco</i> T22 I	<20	20	100	(140)	(20)	120
<i>Eco</i> 52 I	<20	<20	<20	<20	<20	100
<i>Eco</i> 81 I	<20	100	<20	<20	100	160
<i>Fba</i> I	(<20)	(<20)	(80)	100	(20)	100
<i>Fok</i> I	(20)	(60)*2	<20	<20	(200)	100
<i>Hae</i> II	80	100	<20	80	140	100
<i>Hae</i> III	60	100	100	60	100	100
<i>Hap</i> II	100		<20	<20		80

제한효소	L	M	H	K	T+BSA	Basal*1
	<i>Hha</i> I	80	100	100	120	120
<i>Hinc</i> II	20	100	20	40	100	80
<i>Hind</i> III	(60)	100	<20	200	(100)	80
<i>Hinf</i> I	80	100	100	160	60	100
<i>Hin</i> 1 I	40	80*2	<20	20	60	160
<i>Hpa</i> I	<20	(40)	20	100	(80)	100
<i>Kpn</i> I	100	60	<20	<20	(100)	80
<i>Mbo</i> I	20	40	60	100	40	100
<i>Mbo</i> II	100	60	<20	<20	60	100
<i>Mfl</i> I	100	80	<20	<20	80	100
<i>Mlu</i> I	60	60	100	(100)	60	100
<i>Msp</i> I	80	80	<20	100	100	80
<i>Mun</i> I	(200)	100*2	<20	<20	160	100
<i>Nae</i> I	100	<20	<20	<20	100	120
<i>Nco</i> I	(40)	(60)	20	60*2	(60)	160
<i>Nde</i> I	<20	40	100	100	80	100
<i>Nhe</i> I	(120)	100	<20	<20	(160)	100
<i>Not</i> I	(<20)	(<20)	20*3	<20	(<20)	100
<i>Nru</i> I	0	<20	20	20	<20	100
<i>Nsb</i> I	40	20	<20	60	100	100
<i>Pma</i> C I	100	80	<20	<20	100	100
<i>Psh</i> A I	20	40	<20	100	60	160
<i>Psh</i> B I	(20)	(40)	20	40	40	100
<i>Psp</i> 1406 I	20	60	<20	<20	100	100
<i>Pst</i> I	(20)	(60)	100	80	(20)	80
<i>Pvu</i> I	(<20)	(20)	(40)	80*2	(40)	120
<i>Pvu</i> II	(80)	100	40	<20	(40)	100
<i>Sac</i> I	100	60	<20	<20	80	80
<i>Sac</i> II	40	20	<20	<20	100	40
<i>Sal</i> I	<20	<20	100	(20)	<20	120
<i>Sau</i> 3A I	(60)	80	100	<20	(80)	100
<i>Sca</i> I	(<20)	(<20)	100	(60)	(<20)	100
<i>Sfi</i> I	(40)	100	<20	<20	100	100
<i>Smi</i> I	<10	<20	100	40	<10	100
<i>Sma</i> I	<20	<20	<20	<20	100	100
<i>Sna</i> B I	(20)	(40)	<20	<20	(40)	100
<i>Spe</i> I	(80)	100	80	100	(80)	100
<i>Sph</i> I	(20)	(40)	100	120	(20)	100
<i>Sse</i> 8387 I	(120)	60*2	<20	<20	(60)	100
<i>Ssp</i> I	(<20)	(60)	40	(100)	(80)	100
<i>Stu</i> I	60	100	60	80	140	100
<i>Taq</i> I	40	80	60	60	80	100
<i>Tth</i> 11 I	(20)	80	40	100	(80)	120
<i>Van</i> 91 I	<20	(20)	60	100	(60)	100
<i>Vpa</i> K11B I	<20	<20	60	(40)	<20	100
<i>Xba</i> I	<20	80*2	20	<20	120	120
<i>Xho</i> I	<20	60	100	160	60	100
<i>Xsp</i> I	<20	60	<20	100	160	100

*1 Basal buffer의 조성은 각 제한효소에 따라 다르다.

*2 +0.01% BSA → 100%

Afl II, *Aor*13H I, *Eco*O65 I, *Fok* I, *Hin*1 I, *Mun* I, *Nco* I, *Pvu* I, *Sse*8387 I, *Xba* I

*3 +0.01% BSA + 0.01% Triton X-100 → 100% *Not* I

■ Universal buffer

L	M	H	K	T+BSA
<i>Afa</i> I	<i>Acc</i> I	<i>Ban</i> II	<i>Afa</i> I	<i>Aat</i> II
<i>Alu</i> I	<i>Acc</i> II	<i>Bgl</i> II	<i>Aor13H</i> I*	<i>Acc</i> I
<i>Aor51H</i> I	<i>Afa</i> I	<i>BmgT120</i> I	<i>Bam</i> HI	<i>Acc</i> II
<i>Apa</i> I	<i>Afl</i> I*	<i>BspT107</i> I	<i>Ban</i> II	<i>Afa</i> I
<i>ApaL</i> I	<i>Alu</i> I	<i>BssH</i> II	<i>Bcn</i> I	<i>Afl</i> II
<i>BspT104</i> I	<i>Aor51H</i> I	<i>BstP</i> I	<i>BcT130</i> I	<i>Alu</i> I
<i>Bsp1286</i> I	<i>BspT104</i> I	<i>BstX</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Aor13H</i> I
<i>BssH</i> II	<i>Bsp1407</i> I	<i>Bst1107</i> I	<i>BmeT110</i> I	<i>Aor51H</i> I
<i>Dra</i> I	<i>BssH</i> II	<i>Cla</i> I	<i>BspT107</i> I	<i>ApaL</i> I
<i>Eae</i> I	<i>Bst1107</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Bst1107</i> I	<i>Ava</i> I
<i>EcoO109</i> I	<i>Cla</i> I	<i>Dra</i> I	<i>Cla</i> I	<i>Bcn</i> I
<i>Hae</i> II	<i>Dra</i> I	<i>EcoO65</i> I*	<i>Cpo</i> I	<i>Bpu1102</i> I
<i>Hae</i> III	<i>Eae</i> I	<i>EcoR</i> I	<i>Dra</i> I	<i>BspT104</i> I
<i>Hap</i> II	<i>EcoO109</i> I	<i>EcoR</i> V	<i>EcoT14</i> I	<i>Bsp1286</i> I
<i>Hha</i> I	<i>Eco81</i> I	<i>EcoT14</i> I	<i>Fba</i> I	<i>Bsp1407</i>
<i>Hinf</i> I	<i>Fok</i> I*	<i>EcoT22</i> I	<i>Hae</i> II	<i>BssH</i> II
<i>Kpn</i> I	<i>Hae</i> II	<i>Hae</i> III	<i>Hae</i> III	<i>Cla</i> I
<i>Mbo</i> II	<i>Hae</i> III	<i>Hha</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Dra</i> I
<i>Mfi</i> I	<i>Hap</i> II	<i>Hinf</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Eae</i> I
<i>Mlu</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Mbo</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>EcoO109</i> I
<i>Msp</i> I	<i>Hinc</i> II	<i>Mlu</i> I	<i>Hpa</i> I	<i>Eco81</i> I
<i>Nae</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Mva</i> I	<i>Mbo</i> I	<i>Hae</i> II
<i>PmaC</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Msp</i> I	<i>Hae</i> III
<i>Sac</i> I	<i>Hin1</i> I*	<i>Not</i> I*	<i>Mva</i> I	<i>Hap</i> II
<i>Stu</i> I	<i>Kpn</i> I	<i>Pst</i> I	<i>Nco</i> I*	<i>Hha</i> I
	<i>Mbo</i> II	<i>Sal</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Hinc</i> II
	<i>Mfi</i> I	<i>Sau3A</i> I	<i>Nsb</i> I	<i>Hinf</i> I
	<i>Mlu</i> I	<i>Sca</i> I	<i>PshA</i> I	<i>Hin1</i> I
	<i>Msp</i> I	<i>Smi</i> I	<i>Pst</i> I	<i>Mbo</i> II
	<i>Mun</i> I*	<i>Spe</i> I	<i>Pvu</i> I*	<i>Mfi</i> I
	<i>Nhe</i> I	<i>Sph</i> I	<i>Spe</i> I	<i>Mlu</i> I
	<i>PmaC</i> I	<i>Stu</i> I	<i>Sph</i> I	<i>Msp</i> I
	<i>Psp1406</i> I	<i>Taq</i> I	<i>Stu</i> I	<i>Mun</i> I
	<i>Pvu</i> II	<i>Var91</i> I	<i>Taq</i> I	<i>Nae</i> I
	<i>Sac</i> I	<i>VpaK11B</i> I	<i>Tth111</i> I	<i>Nde</i> I
	<i>Sau3A</i> I	<i>Xho</i> I	<i>Var91</i> I	<i>Nsb</i> I
	<i>Sfi</i> I		<i>Xho</i> I	<i>PmaC</i> I
	<i>Spe</i> I		<i>Xsp</i> I	<i>PshA</i> I
	<i>Sse8387</i> I*			<i>Psp1406</i> I
	<i>Stu</i> I			<i>Sac</i> I
	<i>Taq</i> I			<i>Sac</i> II
	<i>Tth111</i> I			<i>Sfi</i> I
	<i>Xba</i> I*			<i>Sma</i> I
	<i>Xho</i> I			<i>Stu</i> I
	<i>Xsp</i> I			<i>Taq</i> I
				<i>Xba</i> I
				<i>Xho</i> I
				<i>Xsp</i> I

*1 + 0,01% BSA *2 + 0,01% BSA + 0,01% Triton X-100

■ Universal buffer Set

Takara Bio에서는 각 제한효소 활성측정에 사용한 10× 버퍼를 첨부하고 있습니다. 또 이 버퍼를 전부 포함한 세트를 준비하고 있습니다. 제한효소를 주문하실 때 같이 연락주시면 제품과 함께 무료로 보내드립니다. 단, 버퍼 세트만 주문하는 것은 불가능하오니 양해하여 주시기 바랍니다.

■ Universal buffer Set 내용물 조성

1, 10×L	1 ml	100 mM	Tris-HCl (pH7,5)
		100 mM	MgCl ₂
		10 mM	Dithiothreitol
2, 10×M	1 ml	100 mM	Tris-HCl (pH7,5)
		100 mM	MgCl ₂
		10 mM	Dithiothreitol
		500 mM	NaCl
3, 10×H	1 ml	500 mM	Tris-HCl (pH7,5)
		100 mM	MgCl ₂
		10 mM	Dithiothreitol
		1000 mM	NaCl
4, 10×K	1 ml	200 mM	Tris-HCl (pH8,5)
		100 mM	MgCl ₂
		10 mM	Dithiothreitol
		1000 mM	KCl
5, 10×T (BSA-free)	1 ml	330 mM	Tris-acetate (pH7,9)
		100 mM	Mg - acetate
		5 mM	Dithiothreitol
		660 mM	K- acetate
6, 0,1% BSA	1 ml	멸균수에 용해	
7, 0,1% Triton X-100	1 ml		

■ 사용상의 주의

버퍼는 반응액의 1/10 양을 첨가한다. 한편 10×T 버퍼에는 BSA가 함유되어 있지 않으므로 사용 시 최종농도 0,01%가 되도록 BSA를 첨가한다. 일부 제한효소 (*1 또는 *2로 표시한 것)는 반응 시 BSA와 Triton X-100을 첨가하는 것이 100% 활성을 갖는 조건이다. 효소에 첨부된 BSA와 Triton X-100은 10×농도(0,1%)이므로 buffer와 동량으로 반응액의 1/10양 첨가하여 반응한다.

■ 보존 -20℃

- 1) Maniatis, T., et al. (1982) "Molecular Cloning" Cold Spring Harbor Laboratory, 98-106.
- 2) O' Farrell, P. H., et al. (1980) *Mol. Gen. Genet.* 179, 421-435.

10×Loading buffer

Takara Bio 에서는 모든 제한효소에 10×Loading buffer (1 ml)를 첨부하고 있습니다.

■ 조성

1%	SDS
50%	Glycerol
0,05%	Bromophenol Blue

■ 사용상의 주의

반응액의 1/10 이상의 loading buffer를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 agarose gel에 loading 하여 주십시오. 또, 실온 보관중 SDS가 응고되는 경우가 있으나 고온에서 용해하여 사용하여 주시기 바랍니다.

■ 보존

개봉 후 실온

Double Digestion용 권장 Universal buffer

주요 제한효소의 Double Digestion용 권장 Universal buffer

2 종류의 제한효소로 동시에 template DNA를 절단하는 double digestion은 시간을 절약하는 방법으로써 일반적으로 이용되고 있다. Takara Bio는 Universal buffer 를 공급함과 동시에 각 효소마다 사용하는 Universal buffer의 상대활성을 표시하고 있지만, 그 중에는 double digestion에 사용하는 Universal buffer의 선택이 곤란한 조합이 있다. 아래의 도표에 pUC plasmid의 cloning site에 절단부위를 갖는 효소를 중심으로 double digestion에 최적인 Universal buffer 조건을 나타내었다. 도표 내용중 Universal buffer 앞에 기재한 [숫자×]는 각 buffer의 최적농도를 의미한다. Universal buffer는 모두 10×농도로 공급하므로 0.5×는 20 배, 1×는 10 배, 2×는 5 배로 희석하여 사용해야 한다. 또 BSA도 10×농도 (0.1%)이므로 10 배로 희석하여 최종농도가 0.01%가 되도록 사용하여야 한다.

Enzyme	Acc I	BamH I	Bgl II	Cla I	EcoR I	EcoR V	Hinc II	Hind III	Kpn I	Nco I	Nde I	Not I	Pst I	Pvu I	Sac I	Sal I	Sma I	Spe I	Sph I	Xba I	Xho I
첨부 버퍼	10×M	10×K	10×H	10×M	10×H	10×H	10×M	10×M	10×L	10×K +BSA	10×H	10×H +BSA +Triton	10×H	10×K +BSA	10×L	10×H	10×T +BSA	10×M	10×H	10×M +BSA	10×H
Acc I	-	0.5×K	1×T	1×M	1×M	0.5×K	1×M	1×M	1×M	1×M +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×T	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
BamH I	0.5×K	-	1×K	1×K	1×K	1×K	0.5×K	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×K	0.5×K +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1.5×T	0.5×T +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1×K
Bgl II	1×T	1×K	-	1×H	1×H	1×H	2×K	1×K	1×T	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	2×T	1×H
Cla I	1×M	1×K	1×H	-	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×M	1×H	1×M	1×H
EcoR I	1×M	1×K	1×H	1×H	-	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×M	1×H
EcoR V	0.5×K	1×K	1×H	1×H	1×H	-	2×T	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	0.5×K +BSA	1×H	1×H	2×T	1×H
Hinc II	1×M	0.5×K	2×K	1×M	1×M	2×T	-	1×M	1×M	1×M +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×K	1×T +BSA	1×M	2×T	1×M	1×M
Hind III	1×M	1×K	1×K	1×M	1×M	1×K	1×M	-	1×M	1×K +BSA	1×K	0.5×K +BSA	1×M	1×K	1×M	1.5×K	1×T +BSA	1×M	1×K	1×M	1×M
Kpn I	1×M	0.5×K	1×T	1×M	1×M	0.5×K	1×M	1×M	-	0.5×K +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×L	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
Nco I	1×M +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×M +BSA	1×K +BSA	0.5×K +BSA	-	1×K +BSA	0.5×K +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	0.5×K +BSA	1.5×T +BSA	1×T +BSA	1×K +BSA	1×K +BSA	1×M +BSA	1×K +BSA
Nde I	1×T	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	1×T	1×K	1×T	1×K +BSA	-	1×H +BSA	1×H	1×K	1×T	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×T	1×H
Not I	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA	-	1×H +BSA	2×K +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA	0.5×T +BSA	1×H +BSA	1×H +BSA	0.5×K +BSA	1×H +BSA
Pst I	1×M	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	-	1×K	1×M	1×H	0.5×T +BSA	1×H	1×H	1×M	1×H
Pvu I	0.5×K	1×K	1×K	1×K	1×K	1×K	0.5×K	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×K	2×K +BSA	1×K	-	0.5×K	1.5×T +BSA	1×K +BSA	1×K	1×K	0.5×K	1×K
Sac I	1×M	0.5×K	0.5×K	1×M	1×M	0.5×K	1×M	1×M	1×L	0.5×K +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	-	1.5×K +BSA	1×T +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1×M
Sal I	1.5×T	1.5×T	1×H	1×H	1×H	1×H	1.5×K	1.5×K	1.5×T +BSA	1.5×T +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1.5×K +BSA	1.5×T +BSA	-	1.5×T +BSA	1×H	1×H	1.5×T	1×H
Sma I	1×T +BSA	0.5×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	0.5×K +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA	0.5×T +BSA	0.5×T +BSA	1×K +BSA	1×T +BSA	1.5×T +BSA	-	1×T +BSA	0.5×T +BSA	1×T +BSA	1×T +BSA
Spe I	1×M	1×K	1×H	1×M	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	-	1×H	1×M	1×H
Sph I	0.5×K	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	2×T	1×K	0.5×K	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	0.5×K	1×H	0.5×T +BSA	1×H	-	2×T	1×H
Xba I	1×M	0.5×K	2×T	1×M	1×M	2×T	1×M	1×M	1×M	1×M +BSA	1×T	0.5×K +BSA	1×M	0.5×K	1×M	1.5×T	1×T +BSA	1×M	2×T	-	1×M
Xho I	1×M	1×K	1×H	1×H	1×H	1×H	1×M	1×M	1×M	1×K +BSA	1×H	1×H +BSA	1×H	1×K	1×M	1×H	1×T +BSA	1×H	1×H	1×M	-

주1) 1 μg DNA/ 50 μl 반응액에 10 U의 효소를 첨가하여 37°C, 1 시간 반응으로 완전 분해 가능하다.

주2) 반응액 중의 Glycerol 농도는 Star 활성을 가능한 한 억제하기 위하여 10% 이하로 사용한다.

주3) DNA의 종류, 고차구조, 인식부위가 인접해 있는 경우 등에서는 완전분해되지 않는 경우도 있다.

제한효소 Genome DNA Analysis Grade

QC용 genome DNA 일람표·완전분해에 필요한 효소량 일람표

각종 genome DNA를 절단하여 해석할 때 적합한 제한효소는 genome DNA의 종류에 따라 다양하다. Takara Bio는 각종 genome DNA 해석에 적합한 제한효소를 선정하여, 효소의 제조 lot별로 적당한 박테리아 genome DNA (agarose embedded, 0.5 µg DNA/ 50 µl gel)에 20~150 U의 제한효소를 첨가하여 24 시간 반응한 뒤 pulsed field 전기영동으로 패턴을 확인하였다. 또, QC용 genome DNA의 완전분해에 필요한 효소량을 산출하였다. 각 효소에 대해 5 U, 10 U, 20 U, 50 U의 효소를 5 시간과 20 시간 반응하여 효소의 필요 최소량을 측정하였다.

QC용 genome DNA 일람표			완전분해에 필요한 효소량 일람표			
제한효소명	인식서열 ^{*1}	QC용 Genome DNA	반응액 ^{*2}	반응온도 (°C)	완전분해에 필요한 효소량 (U)	
					5 시간 반응	20 시간 반응
Aat II	GACGTC	<i>Staphylococcus aureus</i>	T+BSA	37	50	5
Aor 51H I	AGCGCT	<i>Staphylococcus aureus</i>	M	37	50	20
Bgl I	GCCNNNNNGGC	<i>Staphylococcus aureus</i>	Basal	37	10	5
Bln I	CCTAGG	<i>Escherichia coli</i>	K	37	5	5
BspT104 I	TTCGAA	<i>Arthrobacter luteus</i>	L	37	40	5
BssH II	GCGCGC	<i>Staphylococcus aureus</i>	M	50	5	5
Bst1107 I	GTATAC	<i>Arthrobacter luteus</i>	K	37	5	5
Cla I	ATCGAT	<i>Arthrobacter luteus</i>	M	30	50	20
Cpo I	CGGWCCG	<i>Staphylococcus aureus</i>	K	30	5	5
Dra I	TTTAAA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	M	37	100 ^{*3}	100 ^{*3}
Eco52 I	CGGCCG	<i>Staphylococcus aureus</i>	Basal	37	10	5
Mlu I	ACGCGT	<i>Staphylococcus aureus</i>	H	37	5	5
Mun I	CAATTG	<i>Arthrobacter luteus</i>	M+BSA	37	5	5
Nae I	GCCGGC	<i>Staphylococcus aureus</i>	L	37	50	50
Nhe I	GCTAGC	<i>Arthrobacter luteus</i>	M	37	50	20
Not I	GCGGCCGC	<i>Escherichia coli</i>	H+BSA+Tri.	37	5	5
Nru I	TCGCGA	<i>Staphylococcus aureus</i>	Basal	37	50	5
Nsb I	TGCGCA	<i>Arthrobacter luteus</i>	T+BSA	37	5	5
PshB I	ATTAAT	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Basal	37	5	5
Psp1406 I	AACGTT	<i>Arthrobacter luteus</i>	T+BSA	37	5	5
Pvu I	CGATCG	<i>Flavobacterium okeanokoites</i>	K+BSA	37	20	5
Sac II	CCGCGG	<i>Staphylococcus aureus</i>	T+BSA	37	10	5
Sal I	GTCGAC	<i>Staphylococcus aureus</i>	H	37	150	5
Sfi I	GGCCNNNNNGGCC	<i>Escherichia coli</i>	M	50	100	50
Sma I	CCCGGG	<i>Staphylococcus aureus</i>	T+BSA	30	5	5
SnaB I	TACGTA	<i>Arthrobacter luteus</i>	Basal	37	10	10
Spe I	ACTAGT	<i>Escherichia coli</i>	M	37	50	20
Sse8387 I	CCTGCAGG	<i>Staphylococcus aureus</i>	M+BSA	37	5	5
Ssp I	AATATT	<i>Arthrobacter luteus</i>	Basal	37	5	5
Sml I	ATTTAAAT	<i>Escherichia coli</i>	H	30	50	5
Xba I	TCTAGA	<i>Escherichia coli</i>	M+BSA	37	50	5
Xho I	CTCGAG	<i>Escherichia coli</i>	H	37	20	5

*1 W : A or T, N : A or C or G or T

*2 0.5 µg DNA/ 50 µl gel +100 µl 반응액

*3 Dra I은 agarose gel 속에서는 극히 반응이 진행되지 않는다. 따라서 우선 적당량을 첨가하여 4°C에서 16 시간 방치한 다음, 37°C로 옮겨 5 시간 또는 20 시간 반응시킨다.

Ligation-Recutting 효율 품질규격

제한효소를 사용함에 있어 중요한 순도 검정 항목인 ligation-recutting 테스트에 대한 ligation-recutting 효율 품질 규격을 일람표로 작성하였다. Takara Bio의 제한효소는 이 규격보다 높은 품질을 보증한다. 구체적인 시험방법은 다음과 같다.

Ligation-recutting 테스트의 대상 template DNA를 우선 2~50 배에 달하는 과잉량의 효소로 반응한다. 절단된 DNA를 회수하고 5' 말단 농도가 0.1~1.0 μM이 되도록 T4 DNA Ligase buffer [66 mM Tris-HCl (pH7.6), 6.6 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 0.4 mM ATP]에 용해한다. 적당량의 T4 DNA Ligase를 첨가하여 16°C에서 1 시간 또는 16~18 시간 반응한다. DNA 회수 후 제한효소 반응액에 용해하고 동일한 제한효소로 DNA를 재절단한다. 이상의 결과로 ligase inhibitor, phosphatase, exonuclease의 유무를 판정한다.

제한효소	Ligation 효율 (%)	Recutting 효율 (%)	제한효소	Ligation 효율 (%)	Recutting 효율 (%)	제한효소	Ligation 효율 (%)	Recutting 효율 (%)	제한효소	Ligation 효율 (%)	Recutting 효율 (%)
<i>Aat</i> II	> 90	> 95	<i>Bss</i> H II	90	100	<i>Hind</i> III	100	100	<i>Sac</i> II	> 90	95
<i>Acc</i> I	> 90	100	<i>Bst</i> P I	> 95	100	<i>Hinf</i> I	> 90	100	<i>Sal</i> I	> 95	100
<i>Acc</i> II	> 90	100	<i>Bst</i> X I	> 90	100	<i>Hin</i> 1 I	90	100	<i>Sau</i> 3A I	> 95	100
<i>Acc</i> III	> 95	100	<i>Bst</i> 1107 I	90	90	<i>Hpa</i> I	> 95	100	<i>Sca</i> I	> 95	100
<i>Afa</i> I	90	100	<i>Cfr</i> 10 I	90	100	<i>Kpn</i> I	> 90	> 95	<i>Sfi</i> I	90	100
<i>Afl</i> II	> 95	100	<i>Cla</i> I	> 95	100	<i>Mbo</i> I	95	100	<i>Sma</i> I	> 95	100
<i>Alu</i> I	> 95	100	<i>Cpo</i> I	100	100	<i>Mbo</i> II	90	100	<i>Smi</i> I	> 80	> 90
<i>Aor</i> 13H I	> 95	100	<i>Dra</i> I	> 90	100	<i>Mfl</i> I	> 95	100	<i>Sna</i> B I	90	> 95
<i>Aor</i> 51H I	90	95	<i>Eae</i> I	100	100	<i>Mlu</i> I	100	100	<i>Spe</i> I	> 99	100
<i>Apa</i> I	> 95	100	<i>Dpn</i> I	>70	> 90	<i>Msp</i> I	90	100	<i>Sph</i> I	100	100
<i>Apa</i> L I	> 95	100	<i>Eam</i> 1105 I	90	90	<i>Mun</i> I	90	100	<i>Sse</i> 8387 I	100	100
<i>Bal</i> I	> 90	100	<i>Eco</i> O65 I	95	100	<i>Nae</i> I	90	100	<i>Ssp</i> I	90	100
<i>Bam</i> H I	> 95	100	<i>Eco</i> O109 I	> 95	100	<i>Nco</i> I	> 95	100	<i>Stu</i> I	> 95	100
<i>Ban</i> II	100	100	<i>Eco</i> R I	100	100	<i>Nde</i> I	90	100	<i>Taq</i> I	> 90	> 90
<i>Bci</i> T130 I	90	90	<i>Eco</i> R V	90	100	<i>Nhe</i> I	90	95	<i>Tth</i> 111 I	> 90	> 90
<i>Bcn</i> I*	90	90	<i>Eco</i> T14 I	100	100	<i>Not</i> I	> 95	100	<i>Van</i> 91 I	90	100
<i>Bgl</i> I	> 95	100	<i>Eco</i> T22 I	90	100	<i>Nru</i> I	95	95	<i>Vpa</i> K11B I	> 90	100
<i>Bgl</i> II	> 95	100	<i>Eco</i> 52 I	90	100	<i>Nsb</i> I	>90	>90	<i>Xba</i> I	100	100
<i>Bln</i> I	90	100	<i>Eco</i> 81 I*	90	90	<i>Pma</i> C I	95	100	<i>Xho</i> I	> 95	100
<i>Bme</i> T110 I	> 90	100	<i>Fba</i> I	100	100	<i>Psh</i> A I	> 90	100	<i>Xsp</i> I	> 90	100
<i>Bmg</i> T120 I	90	100	<i>Fok</i> I	> 95	100	<i>Psh</i> B I	95	100			
<i>Bpu</i> 1102 I	90	100	<i>Hae</i> II	> 95	100	<i>Psp</i> 1406 I	90	100			
<i>Bsp</i> T104 I	> 95	100	<i>Hae</i> III	> 95	100	<i>Pst</i> I	> 95	100			
<i>Bsp</i> T107 I	> 95	100	<i>Hap</i> II	> 90	100	<i>Pvu</i> I	> 95	100			
<i>Bsp</i> 1286 I	90	100	<i>Hha</i> I	> 90	100	<i>Pvu</i> II	> 95	100			
<i>Bsp</i> 1407 I	90	100	<i>Hinc</i> II	> 95	100	<i>Sac</i> I	> 99	100			

* Ligation 반응에는 TaKaRa DNA Ligation kit Ver.2.1 (Code 6022)를 사용해서 26°C에서 10 분간 반응하였다.

pKF3 cloning 테스트

■ 제한효소 (품질관리)

pKF3 Cloning Test는 Enforcement Cloning Vector pKF3 DNA의 multicloning site에 절단부위가 하나인 제한효소에 대하여 실시하였다. 이 DNA의 multicloning site는 그 염기서열이 *rpsL* 유전자를 암호화하고 있어 *rpsL* 유전자가 발현하면 숙주는 streptomycin 내성으로부터 감수성으로 변한다. 제한효소에 exonuclease 등의 미량의 nuclease가 혼입하게 되면 *rpsL* 유전자에 결함이 생겨 숙주는 내성 상태로 남게된다. 이 성질을 이용하여 제한효소중에 존재하는 미량의 nuclease를 검출할 수 있다.

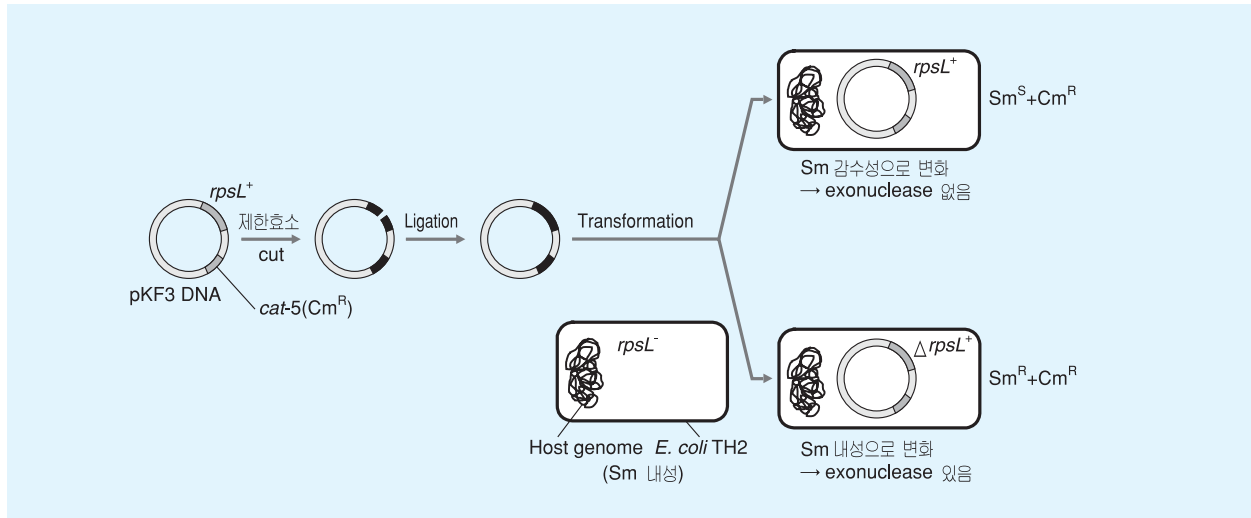


그림 1 pKF3 cloning 테스트의 원리도

※ pKF3의 상세한 정보는 본문 Enforcement Cloning System pKF3 (Code 6086)를 참조하십시오.

■ pKF3 cloning 테스트를 채용하고 있는 제한효소 일람표

<i>Acc</i> III	<i>Aor</i> 13H I	<i>Aor</i> 51H I	<i>Bal</i> I	<i>Bam</i> H I	<i>Ban</i> II	<i>Bgl</i> II
<i>Bsp</i> T104 I	<i>Bst</i> P I	<i>Bst</i> 1107 I	<i>Cla</i> I	<i>Eco</i> O65 I	<i>Eco</i> R I	<i>Eco</i> T14 I
<i>Eco</i> 52 I	<i>Fba</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Hap</i> I	<i>Kpn</i> I	<i>Mlu</i> I	<i>Nco</i> I
<i>Nde</i> I	<i>Not</i> I	<i>Nsb</i> I	<i>Psh</i> B I	<i>Pst</i> I	<i>Pvu</i> I	<i>Pvu</i> II
<i>Sac</i> I	<i>Sac</i> II	<i>Sal</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Sph</i> I	<i>Sse</i> 8387 I	<i>Stu</i> I
<i>Vpa</i> K11B I	<i>Xba</i> I	<i>Xho</i> I				

F-a

제한효소

제한효소 활성화에 대한 methyl화의 영향

다수의 DNA는 methyl화된 염기를 갖는다. 제한효소 인식서열 내의 염기가 methyl화 되면 염기의 종류 및 위치에 따라서 DNA를 절단할 수 없는 경우가 있다. 다수의 대장균은 2종류의 서열 특이적인 DNA methylase, *dam* methylase (G^{5m}ATC) 및 *dcm* methylase (C^{5m}CWGG)를 갖고 있어, 그 대장균 유래의 DNA는 각각의 해당서열에 methyl화가 일어난다. 특히, 포유류 유래의 DNA는 CG methylase (5mCG)에 의해 methyl화가 일어나는 경우가 있다. 여기서는 이러한 methyl화가 제한효소의 활성화에 미치는 영향에 대하여 현재까지 문헌 등으로 보고된 것을 기재하였다. 또, 제한효소의 활성화에 영향을 미치는 methylase 및 methyl화로 절단되지 않는 염기서열도 기재하였다.

F-a

제한효소

제한효소	인식서열 ¹	절단에 영향을 미치는 methylase와 그 인식서열	methylase의 영향을 받는 서열 ²	문헌 보고 내용	
				methyl화의 영향을 받지 않는 서열	methyl화의 영향을 받는 서열
<i>Aat</i> II	GACGTC	CG methylase 5mCG	GA ^{5m} CGTC		GA ^{5m} CGTC GACGT ^{5m} C
<i>Acc</i> I	GTMKAC	CG methylase 5mCG	GTMKA ^{5m} CG GT ^{5m} CGAC		GTMK ^{6m} AC GTMKA ^{5m} C ^{*3} GT ^{5m} CGAC ^{*4}
<i>Acc</i> II	CGCG	CG methylase 5mCG	5mCG ^{5m} CG		5mCGCG
<i>Acc</i> III	TCCGGA	<i>dam</i> methylase G ^{6m} ATC	TCCGG ^{6m} ATC	T ^{5m} C ^{5m} CGGA TC ^{5m} CGGA ^{*3}	TCCGG ^{6m} A
<i>Afa</i> I	GTAC	CG methylase 5mCG	GTA ^{5m} CG		GTA ^{5m} C ^{*3,*4}
<i>Afl</i> II	CTTAAG				5mCTTAAG CTTA ^{6m} AG
<i>Alu</i> I	AGCT				6mAGCT AG ^{4m} CT AG ^{5m} CT AG ^{5hm} CT
<i>Aor</i> 13H I	TCCGGA	CG methylase 5mCG	TC ^{5m} CGGA		TC ^{5m} CGGA
<i>Aor</i> 51H I	AGCGCT	CG methylase 5mCG	AG ^{5m} CGCT		AG ^{5m} CGCT ^{*4}
<i>Apa</i> I	GGGCCC	<i>dcm</i> methylase C ^{5m} CWGG CG methylase 5mCG	GGGCC ^{5m} CWGG GGGCC ^{5m} CG		GGG ^{5m} CCC GGGCC ^{5m} C
<i>Apa</i> L I	GTGCAC	CG methylase 5mCG	GTGCA ^{5m} CG	GTG ^{5m} CAC GTGC ^{6m} AC	GTGCA ^{5m} C
<i>Bal</i> I	TGGCCA	<i>dcm</i> methylase C ^{5m} CWGG	TGGC ^{5m} CAGG		TGG ^{5m} C ^{5m} CA TGGC ^{5m} CA
<i>Bam</i> H I	GGATCC			GGATC ^{4m} C GGATC ^{5m} C GG ^{6m} ATCC GG ^{6m} ATC ^{5m} C	GGAT ^{4m} CC GGAT ^{5m} CC GGAT ^{5hm} C ^{5hm} C
<i>Ban</i> II	GRGCYC			GRGCY ^{5m} C 5mCCSGG	GRG ^{5m} CYC C ^{4m} CSGG
<i>Bcn</i> I	CCSGG			C ^{5m} CSGG	
<i>Bgl</i> I	GCCN ₅ GGC	CG methylase 5mCG	GCCN ₅ GG ^{5m} CG	GC ^{5m} CN ₅ GGC	G ^{5m} C ^{5m} CN ₅ GGC GCCN ₅ GG ^{5m} C GC ^{4m} CN ₅ GGC
<i>Bgl</i> II	AGATCT			AG ^{6m} ATCT	AGAT ^{5m} CT AGAT ^{5hm} CT
<i>Bln</i> I	CCTAGG				
<i>Bme</i> T110 I	CYCGRG			CC ^{5m} CGRG CTCG ^{6m} AG AG ^{5m} CTCGGG 5mCCCCGGG	
<i>Bmg</i> T120 I	GGNCC	<i>dcm</i> methylase C ^{5m} CWGG CG methylase 5mCG	GGNC ^{5m} CWGG GGNC ^{5m} CG		GGNC ^{5m} C GG ^{5m} CCC GGK ^{5m} CC
<i>Bpu</i> 1102 I	GCTNAGC				
<i>Bsp</i> T104 I	TTCGAA	CG methylase 5mCG	TT ^{5m} CGAA		TT ^{5m} C ^{5m} CAA

제한효소	인식서열 ¹	절단에 영향을 미치는 methylase와 그 인식서열	methylase의 영향을 받는 서열 ²	문헌 보고 내용	
				methyl화의 영향을 받지 않는 서열	methyl화의 영향을 받는 서열
<i>Bsp</i> T107 I	GGYRCC				
<i>Bsp</i> 1286 I	GDGCHC			GDGCH ^{5m} C	GDG ^{5m} CHC
<i>Bsp</i> 1407 I	TGTACA				
<i>Bss</i> H II	GCGCGC	CG methylase	5mCG	G ^{5m} CG ^{5m} CGC	G ^{5m} CGCGC
<i>Bst</i> P I	GGTNACC			GGTNAC ^{5m} C ^{*4}	
<i>Bst</i> X I	CCAN ⁶ TGG			CCAN ₄ C ^{5m} CTGG ^{*4}	5mCCAN ₆ TGG
<i>Bst</i> I 107 I	GTATAC	CG methylase	5mCG	GTATA ^{5m} CG	GTATA ^{5m} C
<i>Cfr</i> 10 I	RCCGGY	CG methylase	5mCG	RC ^{5m} CGGY	R ^{5m} CCGGY RC ^{5m} CGGY ^{*4}
<i>Cla</i> I	ATCGAT	<i>dam</i> methylase	G ^{6m} ATC	G ^{6m} ATCGAT ATCG ^{6m} ATC	6mATCGAT ATCG ^{6m} AT
		CG methylase	5mCG	AT ^{5m} CGAT	AT ^{5m} CGAT
<i>Cpo</i> I	CGGWCCG	CG methylase	5mCG	5mCGGW ^{5m} C ^{5m} CG	CGGW ^{5m} CCG ^{*4} CGGW ^{5m} C ^{5m} CG ^{*4}
<i>Dra</i> I	TTTAAA			TTTA ^{6m} AA	
<i>Eae</i> I	YGGCCR	<i>dcm</i> methylase	C ^{5m} CWGG	YGGC ^{5m} CAGG	YGG ^{5m} CCR
		CG methylase	5mCG	YGGC ^{5m} CG	YGGC ^{5m} CR
<i>Eam</i> 1105 I	GACN ₅ GTC			GA ^{5m} CN ₅ GTC ^{*4} GACN ₅ GT ^{5m} C ^{*4}	
<i>Eco</i> O65 I	GGTNACC			GGTNAC ^{5m} C ^{*4}	
<i>Eco</i> O109 I	RGGNCCY	<i>dcm</i> methylase	C ^{5m} CWGG	RGNC ^{5m} CTGG	RGNC ^{5m} CY
<i>Eco</i> R I	GAATTC	CG methylase	5mCG	GAATT ^{5hm} C	G ^{6m} AATTC
				GAA ^{5hm} U ^{5hm} UC	GA ^{6m} ATTC GAATT ^{5m} C ^{*3}
<i>Eco</i> R V	GATATC			GATAT ^{5m} C GATAT ^{5hm} C	G ^{6m} ATATC GAT ^{6m} ATC
<i>Eco</i> T14 I	CCWWGG				
<i>Eco</i> T22 I	ATGCAT				ATG ^{5m} CAT ATGC ^{5m} AT
<i>Eco</i> 52 I	CGGCCG	CG methylase	5mCG	5mCGGC ^{5m} CG	5mCGGC ^{5m} CG ^{*4} CGGC ^{5m} CG ^{*4} CGG ^{5m} CCG ^{*4}
<i>Eco</i> 81 I	CCTNAGG				
<i>Fba</i> I	TGATCA	<i>dam</i> methylase	G ^{6m} ATC	TG ^{6m} ATCA	TG ^{6m} ATCA
<i>Fok</i> I	GGATG (CATCC)			CAT ^{5m} CC	C ^{6m} ATCC
				CATC ^{4m} C CATC ^{5m} C ^{*3}	GG ^{6m} ATG
<i>Hae</i> II	RGCGCY	CG methylase	5mCG	RG ^{5m} CGCY	RG ^{5m} CGCY RGCG ^{5m} CY ^{*3} RG ^{5hm} CG ^{5hm} CY
<i>Hae</i> III	GGCC			GGC ^{5m} C	GG ^{5m} CC ^{*3} GG ^{5hm} C ^{5hm} C
<i>Hap</i> II	CCGG	CG methylase	5mCG	C ^{5m} CCGG	C ^{5m} CCGG
<i>Hha</i> I	GCGC	CG methylase	5mCG	G ^{5m} CGC	G ^{5m} CGC GCG ^{5m} C G ^{5hm} CG ^{5hm} C
<i>Hinc</i> II	GTYRAC			GTYRA ^{5m} C GT ^{5m} CGAC ^{*4}	GTYR ^{6m} AC GTYRA ^{5hm} C
<i>Hind</i> III	AAGCTT			A ^{6m} AGCTT AAGC ^{5hm} U ^{5hm} U	6mAAGCTT AAG ^{5m} CTT AAG ^{5hm} CTT
<i>Hinf</i> I	GANTC			GANT ^{5m} C ^{*3}	G ^{6m} ANTC GANT ^{5hm} C
<i>Hin</i> 1 I	GRCGYC	CG methylase	5mCG	GR ^{5m} CGYC	GR ^{5m} CGYC
<i>Hpa</i> I	GTTAAC			GTTAA ^{5m} C	GTTA ^{6m} AC GTTAA ^{5hm} C G ^{5hm} U ^{5hm} U AAC
<i>Kpn</i> I	GGTACC			GGTA ^{5m} CC GGTA ^{5m} C ^{5m} C GGTAC ^{5m} C	GGT ^{6m} ACC GGTAC ^{4m} C

제한효소	인식서열 ¹⁾	절단에 영향을 미치는 methylase와 그 인식서열		methylase의 영향을 받는 서열 ²⁾	문헌 보고 내용	
					methyl화의 영향을 받지 않는 서열	methyl화의 영향을 받는 서열
<i>Mbo</i> I	GATC	<i>dam</i> methylase	G ^{6m} ATC	G ^{6m} ATC	GAT ^{4m} C GAT ^{5m} C GA ^{5hm} UC	G ^{6m} ATC GAT ^{5hm} C
<i>Mbo</i> II	GAAGA (TCTTC)	<i>dam</i> methylase	G ^{6m} ATC	GAAG ^{6m} ATC	T ^{5m} CTT ^{5m} C* ³ G ^{6m} AAGA	GA ^{6m} AGA GAAGG ^{6m} A
<i>Mfl</i> I	RGATCY	<i>dam</i> methylase	G ^{6m} ATC	RG ^{6m} ATCY	^{6m} AGATCY* ³	RG ^{6m} ATCY RGAT ^{4m} CY RGAT ^{5m} CY
<i>Mlu</i> I	ACGCGT	CG methylase	5 ^m CG	A ^{5m} CG ^{5m} CGT	^{6m} ACGCGT	A ^{5m} CGCGT
<i>Msp</i> I	CCGG				4 ^m CCGG C ^{4m} CCGG C ^{5m} CCGG* ³	5 ^m CCGG 5 ^{hm} C ^{5hm} CCGG
<i>Mun</i> I	CAATTG					CA ^{6m} ATTG
<i>Nae</i> I	GCCGGC	CG methylase	5 ^m CG	GC ^{5m} CGGC GCCGG ^{5m} CG		G ^{5m} CCGGC GC ^{5m} CGGC GCCGG ^{5m} C
<i>Nco</i> I	CCATGG				CC ^{6m} ATGG	4 ^m CCATGG 5 ^m CCATGG
<i>Nde</i> I	CATATG				5 ^m CATATG	
<i>Nhe</i> I	GCTAGC	CG methylase	5 ^m CG	GCTAG ^{5m} CG		GCTAG ^{5m} C
<i>Not</i> I	GCGGCCGC	CG methylase	5 ^m CG	G ^{5m} CGGC ^{5m} CGC	GCGGCCG ^{5m} C	GCGG ^{5m} CCGC GCGGC ^{5m} CGC
<i>Nru</i> I	TCGCGA	<i>dam</i> methylase CG methylase	G ^{6m} ATC 5 ^m CG	TCGCG ^{6m} ATC T ^{5m} CG ^{5m} CGA	TCG ^{5m} CGA	T ^{5m} CGCGA TCGCG ^{6m} A
<i>Nsb</i> I	TGCGCA	CG methylase	5 ^m CG	TG ^{5m} CGCA	TGCGC ^{6m} A	TG ^{5m} CGCA
<i>Pma</i> C I	CACGTG	CG methylase	5 ^m CG	CA ^{5m} CGTG		CA ^{5m} CGTG* ⁴
<i>Psh</i> A I	GACN ⁴ GTC	CG methylase	5 ^m CG	GA ^{5m} CGN ³ GTC	GACN ⁴ GT ^{5m} C* ⁴	GA ^{5m} CN ⁴ GTC* ⁴
<i>Psh</i> B I	ATTAAT					
<i>Psp</i> 1406 I	AACGTT	CG methylase	5 ^m CG	AA ^{5m} CGTT		AA ^{5m} CGTT
<i>Pst</i> I	CTGCAG					5 ^m CTGCAG CTGC ^{6m} AG C ^{5hm} UGCAG
<i>Pvu</i> I	CGATCG	CG methylase	5 ^m CG	5 ^m CGAT ^{5m} CG	CG ^{6m} ATCG	CGAT ^{4m} CG CGAT ^{5m} CG
<i>Pvu</i> II	CAGCTG					CAG ^{4m} CTG CAG ^{5m} CTG
<i>Sac</i> I	GAGCTC				G ^{6m} AGCTC GAGCT ^{5m} C	GAG ^{5m} CTC
<i>Sac</i> II	CCGCGG	CG methylase	5 ^m CG	C ^{5m} CG ^{5m} CGG		5 ^m CCGCGG C ^{5m} CCGCGG
<i>Sal</i> I	GTCGAC	CG methylase	5 ^m CG	GT ^{5m} CGAC	GTCGA ^{5m} C	GT ^{5m} CGAC GTCG ^{6m} AC
<i>Sau</i> 3A I	GATC	CG methylase	5 ^m CG	GAT ^{5m} CG	G ^{6m} ATC GA ^{5hm} UC	GAT ^{4m} C GAT ^{5m} C* ³ GAT ^{5hm} C
<i>Sca</i> I	AGTACT				AGTA ^{5m} CT	
<i>Sfi</i> I	GGCCN ⁵ GGCC	<i>dcm</i> methylase CG methylase	C ^{5m} CWGG 5 ^m CG	GGC ^{5m} CWGGN ₂ GGCC GGCCN ⁵ GGC ^{5m} CWGG GGCCN ⁵ GGC ^{5m} CG	GG ^{5m} CCN ⁵ GG ^{5m} CC	GG ^{4m} CCN ⁵ GGCC GGC ^{5m} CN ⁵ GGCC GGCCN ⁵ GGC ^{5m} C
<i>Sma</i> I	CCCGGG	CG methylase	5 ^m CG	CC ^{5m} CGGG	C ^{5m} CCGGG	4 ^m CCCGGG 5 ^m CCCGGG C ^{4m} CCCGGG CC ^{4m} CGGG CC ^{5m} CGGG* ³
<i>Smi</i> I	ATTTAAAT					
<i>Sna</i> B I	TACGTA	CG methylase	5 ^m CG	TA ^{5m} CGTA		T ^{6m} ACGT ^{6m} A TA ^{5m} CGTA
<i>Spe</i> I	ACTAGT					^{6m} ACTAGT A ^{5m} CTAGT
<i>Sph</i> I	GCATGC				GCATG ^{5m} C G ^{5hm} CATG ^{5hm} C	GC ^{6m} ATGC

제한효소	인식서열 ¹⁾	절단에 영향을 미치는 methylase와 그 인식서열	methylase의 영향을 받는 서열 ²⁾	문헌 보고 내용	
				methyl화의 영향을 받지 않는 서열	methyl화의 영향을 받는 서열
<i>Sse8387</i> I	CCTGCAGG			^{5m} CGCCTGCAGG ^{5m} CG ^{*4}	^{5m} CCTGCAGG ^{*4} ^{5m} CTGCAGG ^{*4} CCTG ^{5m} CAGG ^{*4} CCTGC ^{6m} AGG ^{*4}
<i>Ssp</i> I	AATATT			^{6m} AATATT	
<i>Stu</i> I	AGGCCT	<i>dcm</i> methylase C ^{5m} CWGG	AGGC ^{5m} CTGG		AGG ^{5m} CCT AGGC ^{4m} CT AGGC ^{5m} CT
<i>Taq</i> I	TCGA	<i>dam</i> methylase G ^{6m} ATC	TCG ^{6m} ATC	T ^{5m} CGA	TCG ^{6m} A
<i>Tth111</i> I	GACN ₃ GTC			GA ^{5m} CN ₃ GT ^{5m} C GACN ₃ GT ^{5m} C ^{*4}	
<i>Van91</i> I	CCAN ₅ TGG	<i>dcm</i> methylase C ^{5m} CWGG	C ^{5m} CAGGN ₃ TGG		C ^{5m} CAN ₅ TGG
<i>VpaK11B</i> I	GGWCC	<i>dcm</i> methylase CG methylase C ^{5m} CWGG ^{5m} CG	GGWC ^{5m} CWGG GGWC ^{5m} CG		GGWC ^{5m} C
<i>Xba</i> I	TCTAGA	<i>dam</i> methylase G ^{6m} ATC	TCTAG ^{6m} ATC		T ^{5m} CTAGA ^{*3} TCTAG ^{6m} A T ^{5m} CTAGA
<i>Xho</i> I	CTCGAG			CT ^{5m} CGAG ^{*3,*4}	^{5m} CTCGAG CTCG ^{6m} AG
<i>Xsp</i> I	CTAG			^{5m} CTAG	

¹⁾ M : A or C
K : G or T
N : A or C or G or T
R : A or G
Y : C or T
W : A or T
S : C or G
H : A or C or T
D : A or G or T

^{4m}C : N4-methyl Cytosine
^{5m}C : C5-methyl Cytosine
^{5m}C : C5-Hydroxymethyl Cytosine
^{6m}A : N6-methyl Adenine

²⁾ CG methylase의 경우는 일부가 절단될 수 있다.

³⁾ *Acc* I : Hemi-methylated GTMKA^{5m}C의 unmethylated strand를 서서히 nicking 한다.
Acc III : TC^{5m}CGGA를 서서히 절단한다 (1/75).
Afa I : Hemi-methylated GTA^{5m}C를 서서히 절단하지만, bi-methylated GTA^{5m}C를 절단할 수 없다.
Ava II : GGWC^{4m}C를 서서히 절단한다.
Bal I : *dcm* site와 중복될 경우 (TGCC^{5m}CAGG)에는 그 절단 속도가 매우 느려진다 (1/50 이하).
Bgl I : Hemi-methylated GC^{5m}CN₅GGC, GC^{4m}CN₅GGC, GCCN₅GG^{5m}C를 서서히 절단하지만, bi-methylated M, *Hae* III-*Bgl* I site는 거의 절단할 수 없다.
Cla I : Hemi-methylated AT^{5m}CGAT를 서서히 절단한다.
*Eco*RI : Hemi-methylated GAATT^{5m}C를 서서히 절단하지만, bi-methylated GAATT^{5m}C를 절단할 수 없다.

Fok I : CATC^{5m}C를 서서히 절단한다 (1/2-1/4).

Hae II : RCGC^{5m}CY를 매우 서서히 절단한다.

Hae III : Hemi-methylated GG^{5m}CC의 unmethylated strand를 nicking한다.

Hind III : Hemi-methylated AAG^{5m}CTT를 서서히 절단한다.

Hinf I : GANT^{5m}C를 서서히 절단한다 (1/10).

Hin I : GRCGY^{5m}C 매우 서서히 절단한다.

Kpn I : Hemi-methylated GGTA^{5m}CC, GGTAC^{5m}C에 영향을 받는 경우가 보고되어, hemi-methylated GGTA^{5m}C^{5m}C를 서서히 절단한다.

Mbo II : Hemi-methylated T^{5m}CTT^{5m}C를 절단할 수 없는 경우가 보고되고 있다.

Mfl I : ^{6m}AGATCY를 서서히 절단한다.

Msp I : GGC^{5m}CGG를 매우 서서히 절단한다.

Mva I : Hemi-methylated CC^{6m}AGG, hemi-methylated^{4m}CCWGG의 unmethylated strand를 nicking한다.

Pst I : Hemi-methylated ^{5m}CTG^{5m}CAG를 서서히 절단한다.

Pvu II : Hemi-methylated ^{5m}CAG^{5m}CTG를 서서히 절단한다.

Sal I : Hemi-methylated GT^{5m}CGAC를 서서히 절단한다.

*Sau*IA I : Hemi-methylated GAT^{5m}C의 unmethylated strand를 nicking한다. 또한 ^{6m}AGATC의 절단속도가 느려지는 경우가 보고되고 있다.

Sma I : Hemi-methylated CC^{5m}CGGG의 unmethylated strand를 nicking한다.

Spe I : Hemi-methylated A^{5m}CTAGT를 서서히 절단한다.

Xba I : Hemi-methylated T^{5m}CTAGA를 절단하지만, 그 절단 속도는 매우 느려진다 (1/100이하).

Xho I : CT^{5m}CGAG를 매우 서서히 절단한다.

한편, hemi-methylated DNA는 두가닥 사슬 중 한쪽 사슬만 methylated DNA이고, ()는 상대속도를 나타낸다.

⁴⁾ TaKaRa, unpublished observations

참고문헌

1) McClelland, M. and Nelson, M.(1993) *Nucleic Acids Res.* **21**, 3139-3154.

제한효소의 Star 활성

제한효소 중에는 주형 DNA에 대하여 과량의 효소를 사용하였을 때 그 특이성이 저하되어 본래의 인식 염기서열과 다른 서열을 절단하는 것이 있는데, 이러한 현상을 제한 효소의 Star 활성이라 한다. 여기서는 Star 활성이 알려진 효소와 출현을 촉진하는 조건, 또한, Star 활성에 의해 절단되는 염기서열을 정리하였다.

제한효소	정상적인 인식서열*	반응조건**	인식가능서열*	참고문헌
Aat II	GACGT ↓ C	E		22
Aor13H I	T ↓ CCGGA	A, C, E		22
Ava II	G ↓ GWCC	A,E		22
BamH I	G ↓ GATCC	A,B,E,F	GRATCC GGNTCC GGANCC GGATYC	1, 2, 3, 4
Ban II	GRGCT ↓ C	A, E, F		22
Bgl I	GCCNNNN ↓ NGGC	F		22
Bgl II	A ↓ GATCT	E		22
BmeT110 I	C ↓ YCGRG	E		
BspT104 I	TT ↓ CGAA	A, E		22
Bst P I	G ↓ GTNACC	A, F		22
Bst1107 I	GTA ↓ TAC	F		22
Eam1105 I	GACNNN ↓ NNGTC	A, C, F		22
EcoO65 I	G ↓ GTNACC	E, F		22
EcoR I	G ↓ AATTC	A, B, E, F	NAATTN	4,8,9,10,11
EcoR V	GAT ↓ ATC	E	RATATC GNTATC GANATC GATNTC GATANC GATATY	12,22
EcoT22 I	ATGCA ↓ T	F, H		22
Fba I	T ↓ GATCA	A, C, E, F		22
Hae III	GG ↓ CC	A		1
Hha I	GCG ↓ C	A, E		4
Hinc II	GTY ↓ RAC	E		22
Hind III	A ↓ AGCTT	B, E	RAGCTT ANGCTT AAKCTT AAGMTT AAGCNT AAGCTY	10, 13, 22
Hpa I	GTT ↓ AAC	A, E		1, 22
Kpn I	GGTAC ↓ C	E		22
Mun I	C ↓ AATTG	A, F		22
Nco I	C ↓ CATGG	A, E		22
Nhe I	G ↓ CTAGC	A, C, E, F		22
Nsb I	TGC ↓ GCA	B		22
PshB I	AA ↓ TAAT	D		22
Psp1406 I	AA ↓ CGTT	E		22
Pst I	CTGCA ↓ G	A, E		1, 4, 22
Pvu II	CAG ↓ CTG	A, E	NAGCTG CNGCTG CANCTG CAGNTG CAGCNG CAGCTN	15, 16, 22
Sac I	GAGCT ↓ C	A, E		22
Sal I	G ↓ TCGAC	A, E		4, 22
Sau3A I	↓ GATC	A, E	SATC GMTC GAKC GATS	17, 22

제한효소	정상적인 인식서열*	반응조건**	인식가능서열*	참고문헌
Sca I	AGT ↓ ACT	B,C,F		21
Sfi I	GGCNNNN ↓ NGGCC	B,F		22
Smi I	ATTT ↓ AAAT	A,B,C,E		22
Spe I	A ↓ CTAGT	E,F		22
Sse8387 I	CCTGCA ↓ GG	E,F		22
Ssp I	AAT ↓ ATT	A,C,E,F		22
Taq I	T ↓ CGA	A,C,F		22
Tth111 I	GACN ↓ NNGTC	B,C,G	NACNNGTC GNCNNGTC GANNNNGTC GACNNTTC GACNNGNC GACNNGTN	19
Var91 I	CCANNNN ↓ NTGG	A		22
VpaK11B I	G ↓ GWCC	A,C,E,F		22
Xba I	T ↓ CTAGA	A,E		1,4

* M : A or C K : G or T N : A or C or G or T
 R : A or G Y : C or T W : A or T
 S : G or C

** A : 고농도 glycerol 존재
 B : Mn²⁺ 존재
 C : 알칼리 pH
 D : acid pH
 E : DMSO 존재
 F : 저이온 농도
 G : 고이온 농도
 H : 2-mercaptoethanol 존재

참고문헌

- Nath, K. and Azzolina, B. A. (1981) in "Gene Amplification and Analysis" 1 : Restriction Endonucleases (Chirikjian, J. G. ed.), 113-130.
- George, J., et al. (1980) *J. Biol. Chem.* **255**, 6521-6524.
- George, J. and Chirikjian, J. G. (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 2432-2436.
- Malyguine, E., et al. (1980) *Gene* **8**, 163-177.
- Clarke, C. M. and Hartley, B. S. (1979) *Biochem. J.* **177**, 49-62.
- Heininger, K., et al. (1977) *Gene* **1**, 291-303.
- Makula, R. A. and Meagher, R. B. (1980) *Nucleic Acids Res.* **8**, 3125-3131.
- Polisky, B., et al. (1975) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 3310-3314.
- Tikhonenko, T. I., et al. (1978) *Gene* **4**, 195-212.
- Hsu, M. and Berg, P. (1978) *Biochemistry* **17**, 131-138.
- Woodbury, C. P., et al. (1980) *J. Biol. Chem.* **255**, 11534-11546.
- Halford, S. E., et al. (1986) *Gene* **41**, 173-181.
- Nasri, M. and Thomas, D. (1986) *Nucleic Acids Res.* **14**, 811-822.
- Gingeras, T. R. and Brooks, J. E. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**, 402-406.
- Nasri, M., et al. (1985) *FEBS Letters* **185**, 101-104.
- Nasri, M. and Thomas, D. (1987) *Nucleic Acids Res.* **15**, 7677-7687.
- Pech, M., et al. (1979) *Cell* **18**, 883-893.
- Barany, F. (1988) *Gene* **65**, 149-165.
- Shinomiya, T., et al. (1982) *J. Biochem.* **92**, 1823-1832.
- Kessler, C., unpublished observations.
- Grosskopt, R. and Kessler, C., unpublished observations.
- TaKaRa, unpublished observations.

pBR322, pUC19 완전분해에 필요한 반응시간

제한효소는 사용하는 기질 DNA에 따라 다른 상대활성을 갖는다. Takara Bio가 판매하는 제한효소 중 pBR322, pUC19의 한 곳을 절단하는 효소에 대해서 동일한 DNA (반응량 10 μ l, 50 μ l)의 완전분해에 필요한 반응시간을 구하였다. 또 Triton X-100 (최종 0.01%)의 첨가로 절단효율이 상승하는 효소에 관해서는 각주를 달았다.

pBR322

제한효소	반응액	사용 효소량 (U)	활성 측정용 DNA	1 μ g DNA /10 μ l (hour)	1 μ g DNA /50 μ l (hour)
Aat II	T+BSA	5	λ	0,25	0,25
Acc III	Basal	10	λ	— [*]	— [*]
Aor13H I	K+BSA	10	λ	0,25	0,25
Bal I	Basal	5	λ	> 20 [*]	> 20 [*]
BamH I	K	10	λ	0,25	0,5
BmeT110 I	K	10	λ	0,25	0,25
Bst1107 I	K	5	λ	0,5	0,5
Cla I	M	10	λ	2	2
Eam1105 I	Basal	5	λ	0,25	0,25
EcoR I	H	10	λ	0,25	0,25
EcoR V	H	10	λ	0,25	0,25
EcoT14 I	H	10	λ	1	1
Eco52 I	Basal	5	λ	3 ^{**}	3
Hind III	M	10	λ	0,5	0,5
Nde I	H	10	λ	0,25	0,25
Nhe I	M	10	λ	2 ^{**}	2 ^{**}
Nru I	Basal	10	λ	0,5	0,5
Nsb I	T + BSA	5	λ	0,5	0,5
PshA I	K	10	λ	0,5	> 2 ^{**}
PshB I	Basal	10	λ	0,25	0,25
Pst I	H	10	λ	0,25	0,25
Pvu I	K + BSA	10	λ	0,25	0,25
Pvu II	M	10	λ	0,25	0,25
Sal I	H	10	λ	5	20 ^{**}
Sca I	H	10	λ	0,25	> 2 ^{**}
Sph I	H	10	λ	0,25	0,25
Ssp I	Basal	10	λ	0,25	0,25
Tth111 I	K	10	λ	1	2 ^{**}

- * Acc III : 통상의 pBR322 DNA 중의 Acc III 인식 서열은, dam methylase에 의해 methylation 되어 있기 때문에 (TCCGG^{dam}A), 거의 절단되지 않는다.
- Bal I : 통상의 pBR322 DNA 중의 Bal I 인식 서열은 dcm methylase에 의해 methylation 되어 있기 때문에 (TGGC^{dcm}CA) 거의 절단되지 않는다.
- Eco52 I : Triton X-100 (최종 0.01%)을 첨가하면 2 시간에 완전히 분해된다.
- Nhe I : Triton X-100 (최종 0.01%)을 첨가하면 두 농도에서 모두 1 시간에 완전히 분해된다.
- PshA I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 2 시간 반응 후에도 극히 소량의 cc-DNA가 잔존한다.
- Sal I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 또, Triton X-100 (최종 0.01%)을 첨가하면 5 시간에 완전분해가 가능하다.
- Sca I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 2 시간 반응 후에도 극히 소량의 cc-DNA가 잔존한다.
- Tth111 I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다.

pUC19

제한효소	반응액	사용 효소량 (U)	활성 측정용 DNA	1 μ g DNA /10 μ l (hour)	1 μ g DNA /50 μ l (hour)
Aat II	T+BSA	5	λ	0,25	0,25
Acc I	M	10	λ	0,25	0,25
BamH I	K	10	λ	0,25	1
Ban II	H	10	λ	1 ^{**}	> 2 ^{**}
BmeT110 I	K	10	λ	0,25	0,25
Cfr10 I	Basal	5	λ	0,5	> 2 ^{**}
Eam1105 I	Basal	5	λ	0,25	0,25
EcoO109 I	L	10	λ	2 ^{**}	2 ^{**}
EcoR I	H	10	λ	0,25	0,25
Hinc II	M	10	λ	0,25	0,25
Hind III	M	10	λ	0,5	0,25
Kpn I	L	10	λ	5 ^{**}	5 ^{**}
Nde I	H	10	λ	0,25	0,25
Nsb I	T + BSA	5	λ	0,25	0,25
Pst I	H	10	λ	0,25	0,25
Sac I	L	10	λ	3	3
Sal I	H	10	λ	20	> 20 ^{**}
Sca I	H	10	λ	0,25	> 2 ^{**}
Sma I	T + BSA	10	λ	0,25	0,25
Sph I	H	10	λ	0,25	0,25
Sse8387 I	M + BSA	10	λ	0,5	0,5
Ssp I	Basal	10	λ	0,5	0,5
Xba I	M + BSA	10	λ ^{**3}	2 ^{**}	1

- ** Ban II : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 2 시간 반응 후에도 아주 소량의 cc-DNA가 잔존한다. 또, Triton X-100 (최종 0.01%)을 첨가하면 15 분에 완전히 분해 가능하다.
- Bbe I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋으나, 두 농도에서 20 시간 반응 후에도 아주 소량의 cc-DNA가 잔존한다. 또, 반응 중 효소를 재첨가하면 4 시간 (2시간×2)만에 반응 종결점에 도달한다. 단, 이 경우에도 완전 분해에는 미치지 못한다. 이는 효소의 인식서열 부근의 2차 구조에 영향을 받는 것으로 생각된다.
- Cfr10 I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 2시간 반응 후에도 아주 소량의 cc-DNA가 잔존한다.
- EcoO109 I : Triton X-100 (최종0.01%)을 첨가하면 두 농도에서 모두 1 시간에 완전히 분해 가능하다.
- Kpn I : 5 시간 반응 후에도 아주 소량의 cc-DNA가 잔존한다. 또 Triton X-100 (최종 0.01%)을 첨가하면 1 시간에 완전히 분해 가능하다.
- Sal I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 20 시간 반응 후에도 아주 소량의 cc-DNA가 잔존한다. 또, Triton X-100 (최종 0.01%)을 첨가하면 20 시간에 완전히 분해 가능하다.
- Sca I : 높은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 2 시간 반응 후에도 아주 소량의 cc-DNA가 잔존한다.
- Xba I : 낮은 DNA 농도 쪽이 절단성이 좋다. 또 Triton X-100 (최종 0.01%)을 첨가하면 1 시간에 완전히 분해 가능하다.

**3 N⁶-methyladenine free λ DNA

F-a
제한 효소

pKF3 완전분해에 필요한 반응시간

제한효소는 사용하는 기질 DNA에 따라 다른 상대활성을 갖는다. Takara가 판매하는 제한효소 중 pKF3의 한 곳을 절단하는 효소에 대하여 동일한 DNA (반응액량 10 μ l, 50 μ l)를 완전분해 하는데 필요한 반응시간을 구하였다. 또, Triton X-100 (final 0.01%)의 첨가에 의해 절단 효율이 상승하는 효소에 대해서는 각주로 기재하였다.

F_a

제한효소

제한효소	반응액	사용 효소량 (U)	활성 측정용 DNA	1 μ g DNA /10 μ l (hour)	1 μ g DNA /50 μ l (hour)
<i>Acc</i> III	Basal	5	λ	1	0.5
<i>Aor</i> 13H I	K+BSA	10	λ	0.25	0.25
<i>Aor</i> 51H I	M	10	λ	0.25	0.25
<i>Apa</i> L I	L	10	λ	0.25	0.25
<i>Bal</i> I	Basal	5	λ	0.25	0.5
<i>Bam</i> H I	K	10	λ	0.25	0.25
<i>Ban</i> II	H	10	λ	0.25	0.25
<i>Bgl</i> II	H	10	λ	0.25	0.25
<i>Bsp</i> T104 I	L	10	λ	0.25	0.25
<i>Bst</i> P I	H	10	λ	0.25	0.25
<i>Bst</i> 1107 I	K	5	λ	0.5	0.5
<i>Cla</i> I	M	10	λ	>20 ^{*1}	>20 ^{*1}
<i>Eco</i> O65 I	H+BSA	10	λ	0.25	0.25
<i>Eco</i> R I	H	10	λ	0.25	0.25
<i>Eco</i> T14 I	H	10	λ	0.25	0.25
<i>Eco</i> 62 I	Basal	5	λ	2	3
<i>Fba</i> I	K	10	λ ^{*3}	>20 ^{*1}	>20 ^{*1}
<i>Fok</i> I	M+BSA	10	λ	0.5	0.5
<i>Hind</i> III	M	10	λ	0.25	0.25
<i>Hpa</i> I	K	10	λ	0.25	0.25
<i>Kpn</i> I	L	10	λ	0.5	0.5

제한효소	반응액	사용 효소량 (U)	활성 측정용 DNA	1 μ g DNA /10 μ l (hour)	1 μ g DNA /50 μ l (hour)
<i>Mlu</i> I	H	10	λ	0.25	0.25
<i>Nco</i> I	K+BSA	10	λ	0.25	0.25
<i>Nde</i> I	H	10	λ	0.5	1
<i>Nhe</i> I	M	10	λ	0.25	0.25
<i>Not</i> I	H+BSA+Tri	10	Ad2	0.25	0.25
<i>Nsb</i> I	T+BSA	10	λ	0.25	0.25
<i>Psh</i> B I	Basal	10	λ	0.25	0.25
<i>Pst</i> I	H	10	λ	0.25	0.25
<i>Pvu</i> I	K+BSA	10	λ	1	1
<i>Pvu</i> II	M	10	λ	0.25	0.25
<i>Sac</i> I	L	10	λ	0.5	0.5
<i>Sac</i> II	T+BSA	10	Ad2	20 ^{*2}	20 ^{*2}
<i>Sal</i> I	H	10	λ	0.5	1
<i>Sca</i> I	H	10	λ	0.25	>2 ^{*2}
<i>Sma</i> I	T+BSA	10	λ	0.5	0.5
<i>Sph</i> I	H	10	λ	0.25	0.5
<i>Sse</i> 8387 I	M+BSA	10	λ	0.25	0.25
<i>Ssp</i> I	Basal	10	λ	0.25	0.25
<i>Stu</i> I	M	10	λ	0.25	0.5
<i>Vpa</i> k11B I	Basal	10	λ	0.25	0.25
<i>Xba</i> I	M+BSA	10	λ ^{*3}	0.25	0.25
<i>Xho</i> I	H	10	λ	0.5	0.5

*1 *Cla* I : 통상 pKF3 DNA 내의 *Cla* I 인식서열은 *dam* methylase에 의해 methyl화 (^mATCGAT) 되어 있어 거의 절단할 수 없다.

Fba I : 통상 pKF3 DNA 내의 *Fba* I 인식서열은 *dam* methylase에 의해 methyl화 (TG^mATCA) 되어 있으므로 거의 절단할 수 없다.

*2 *Sac* II : pKF3 DNA가 supercoil 형태이면 절단하기 힘들다.

Sca I : 높은 DNA농도 쪽이 절단성이 좋다. 또, Triton X-100 (final 0.01%)를 첨가하면 15분만에 완전히 분해할 수 있다.

*3 N³-methyladenine free λ DNA

16시간 반응에서 완전분해에 필요한 효소량

장시간 반응할 경우, 활성량은 제한효소의 종류에 따라 다양하다. 따라서 각각의 효소에 대한 활성측정으로 DNA 1 μ g을 완전분해하는데 필요한 효소량을 검토하였다. 아래의 표는 Takara 활성측정 조건에서 0.13, 0.25, 0.50, 1.00 U의 효소를 16 시간 반응하여 완전분해하는 최소 효소량을 구하였다.

제한효소	완전분해 필요 효소량 (U)
<i>Aat</i> II	0.50
<i>Acc</i> I	0.25
<i>Acc</i> II	0.13
<i>Acc</i> III	0.13
<i>Afa</i> I	0.25
<i>Afl</i> II	0.13
<i>Alu</i> I	0.13
<i>Aor</i> 13H I	0.13
<i>Aor</i> 51H I	0.13
<i>Apa</i> I	0.25
<i>Apa</i> L I	0.13
<i>Bal</i> I	1.00
<i>Bam</i> H I	0.50
<i>Ban</i> II	0.50
<i>Bcn</i> I	0.50
<i>Bgl</i> I	0.25
<i>Bgl</i> II	0.50
<i>Bln</i> I	0.25
<i>Bme</i> T110 I	0.50
<i>Bmg</i> T120 I	0.50
<i>Bpu</i> 1102 I	0.13
<i>Bsp</i> T104 I	0.50
<i>Bsp</i> T107 I	0.13
<i>Bsp</i> 1286 I	0.25
<i>Bsp</i> 1407 I	0.13
<i>Bss</i> H II	0.13
<i>Bst</i> P I	0.13
<i>Bst</i> X I	0.25
<i>Bst</i> 1107 I	0.50
<i>Cfr</i> 10 I	0.13
<i>Cfr</i> 13 I	1.00
<i>Cla</i> I	0.25

제한효소	완전분해 필요 효소량 (U)
<i>Cpo</i> I	0.50
<i>Dra</i> I	0.13
<i>Eae</i> I	1.00
<i>Eam</i> 1105 I	0.13
<i>Eco</i> O65 I	0.25
<i>Eco</i> O109 I	0.13
<i>Eco</i> R I	0.50
<i>Eco</i> R V	0.13
<i>Eco</i> T14 I	0.50
<i>Eco</i> T22 I	0.50
<i>Eco</i> 52 I	0.25
<i>Eco</i> 81 I	0.25
<i>Fba</i> I	0.13
<i>Fok</i> I	0.50
<i>Hae</i> II	0.50
<i>Hae</i> III	0.13
<i>Hap</i> II	0.13
<i>Hha</i> I	0.13
<i>Hinc</i> II	0.50
<i>Hind</i> III	0.50
<i>Hinf</i> I	0.25
<i>Hin</i> 1 I	0.13
<i>Hpa</i> I	0.25
<i>Kpn</i> I	0.50
<i>Mbo</i> I	0.13
<i>Mbo</i> II	0.50
<i>Mfi</i> I	0.13
<i>Mlu</i> I	0.25
<i>Msp</i> I	0.50
<i>Mun</i> I	0.13
<i>Nae</i> I	0.50
<i>Nco</i> I	0.13

제한효소	완전분해 필요 효소량 (U)
<i>Nde</i> I	0.50
<i>Nhe</i> I	0.13
<i>Not</i> I	0.13
<i>Nru</i> I	0.13
<i>Nsb</i> I	0.25
<i>Pma</i> C I	0.50
<i>Psh</i> A I	1.00
<i>Psh</i> B I	0.25
<i>Psp</i> 1406 I	0.25
<i>Pst</i> I	0.50
<i>Pvu</i> I	0.13
<i>Pvu</i> II	0.13
<i>Sac</i> I	0.50
<i>Sac</i> II	0.13
<i>Sal</i> I	0.13
<i>Sau</i> 3A I	0.25
<i>Sca</i> I	1.00
<i>Sfi</i> I	0.13
<i>Sma</i> I	0.25
<i>Smi</i> I	0.13
<i>Sna</i> B I	0.50
<i>Spe</i> I	0.13
<i>Sph</i> I	0.50
<i>Sse</i> 8387 I	0.50
<i>Ssp</i> I	0.50
<i>Stu</i> I	0.50
<i>Taq</i> I	0.13
<i>Tth</i> 111 I	0.25
<i>Van</i> 91 I	0.50
<i>Vpak</i> 11B I	0.25
<i>Xba</i> I	0.25
<i>Xho</i> I	0.13
<i>Xsp</i> I	0.50

F-a

제한효소

장시간 제한효소 반응시의 잔존활성

제한효소의 표준 반응시간은 1 시간이지만, 장시간 반응을 해야하는 경우도 있다. 아래의 표는 2, 5, 16 시간 후의 잔존활성을 표시한 것이다.

F-a

제한효소

제한효소	2 시간	5 시간	16 시간
<i>Aat</i> II	+	+	+
<i>Acc</i> I	+	+	+
<i>Acc</i> II	+	+	+
<i>Acc</i> III	+	+	±
<i>Afa</i> I	±	±	±
<i>Afl</i> II	NT	+	+
<i>Alu</i> I	NT	NT	+
<i>Aor</i> 13H I	+	+	+
<i>Aor</i> 51H I	+	+	+
<i>Apa</i> I	+	+	+
<i>Apa</i> L I	NT	NT	+
<i>Bal</i> I	±	-	-
<i>Bam</i> H I	+	+	-
<i>Ban</i> II	NT	+	+
<i>Bcn</i> I	+	+	-
<i>Bgl</i> I	NT	+	-
<i>Bgl</i> II	NT	+	+
<i>Bln</i> I	+	+	±
<i>Bme</i> T110 I	+	+	±
<i>Bmg</i> T120 I	+	±	±
<i>Bpu</i> 1102 I	+	+	+
<i>Bsp</i> T104 I	+	+	+
<i>Bsp</i> T107 I	+	+	+
<i>Bsp</i> 1286 I	+	+	+
<i>Bsp</i> 1407 I	+	+	+
<i>Bss</i> H II	+	+	+
<i>Bst</i> P I	+	+	+
<i>Bst</i> X I	+	+	+
<i>Bst</i> 1107 I	+	+	±
<i>Cfr</i> 10 I	+	±	±
<i>Cla</i> I	+	+	+
<i>Cpo</i> I	±	-	-
<i>Dra</i> I	+	-	-
<i>Eae</i> I	+	+	+
<i>Eam</i> 1105 I	+	+	+
<i>Eco</i> O65 I	+	+	±
<i>Eco</i> O109 I	+	+	±
<i>Eco</i> R I	+	+	+
<i>Eco</i> R V	NT	+	+
<i>Eco</i> T14 I	+	±	-
<i>Eco</i> T22 I	+	±	-
<i>Eco</i> 52 I	±	±	-
<i>Eco</i> 81 I	+	+	+
<i>Fba</i> I	+	+	±
<i>Fok</i> I	+	+	+
<i>Hae</i> II	+	+	+
<i>Hae</i> III	+	+	+
<i>Hap</i> II	+	+	+

제한효소	2 시간	5 시간	16 시간
<i>Hha</i> I	+	+	+
<i>Hinc</i> II	+	+	+
<i>Hind</i> III	+	+	+
<i>Hinf</i> I	NT	+	+
<i>Hin</i> 1 I	NT	NT	+
<i>Hpa</i> I	+	+	+
<i>Kpn</i> I	+	+	+
<i>Mbo</i> I	+	+	+
<i>Mbo</i> II	±	±	±
<i>Mfl</i> I	+	±	±
<i>Mlu</i> I	NT	+	+
<i>Msp</i> I	+	+	±
<i>Mun</i> I	NT	+	+
<i>Nae</i> I	+	+	±
<i>Nco</i> I	NT	+	+
<i>Nde</i> I	±	±	±
<i>Nhe</i> I	+	+	+
<i>Not</i> I	NT	+	+
<i>Nru</i> I	NT	+	+
<i>Nsb</i> I	+	+	+
<i>Pma</i> C I	+	±	-
<i>Psh</i> A I	-	-	-
<i>Psh</i> B I	+	+	-
<i>Psp</i> 1406 I	+	+	+
<i>Pst</i> I	NT	+	+
<i>Pvu</i> I	NT	+	+
<i>Pvu</i> II	+	+	+
<i>Sac</i> I	+	+	+
<i>Sac</i> II	+	+	+
<i>Sal</i> I	NT	+	+
<i>Sau</i> 3A I	±	±	±
<i>Sca</i> I	-	-	-
<i>Sfi</i> I	+	+	+
<i>Sma</i> I	+	+	+
<i>Smi</i> I	+	+	+
<i>Sna</i> B I	+	+	-
<i>Spe</i> I	NT	+	+
<i>Sph</i> I	-	-	NT
<i>Sse</i> 8387 I	+	+	+
<i>Ssp</i> I	NT	+	±
<i>Stu</i> I	+	±	±
<i>Taq</i> I	+	+	+
<i>Tth</i> 111 I	+	+	+
<i>Var</i> 91 I	+	+	-
<i>Vpa</i> K11B I	+	+	+
<i>Xba</i> I	NT	+	+
<i>Xho</i> I	NT	+	+
<i>Xsp</i> I	+	+	±

+ : 완전히 잔존 ± : 일부잔존 - : 잔존활성 없음 NT : 미시험

각종 실험처리 후의 잔존활성

절단 반응 후 제한효소의 실험을 위하여 일반적으로 가열 처리를 실시한다. 그러나 효소에 따라 내열성이 다르고 또 DNA의 변성온도를 고려할 때, 열처리만으로는 실험처리가 충분하지 못한 경우가 있다. 따라서 각각의 효소에 대하여 네 종류의 실험처리를 실시하여 잔존활성을 측정하고 실험조건을 검토하였다.

1. 60℃, 15분 가열처리 2. 70℃, 15분 가열처리 3. Ethanol 침전처리 4. Phenol 정제, ethanol 침전처리

제한효소	60℃ 15 min	70℃ 15 min	Ethanol 침전	Phenol 처리
<i>Aat</i> II	+	-	-	NT
<i>Acc</i> I	+	-	-	NT
<i>Acc</i> II	+	+	-	NT
<i>Acc</i> III	NT	-	-	NT
<i>Afa</i> I	+	-	+	-
<i>Afl</i> II	-	NT	-	NT
<i>Alu</i> I	-	NT	+	-
<i>Aor</i> 13H I	NT	+	+	-
<i>Aor</i> 51H I	-	NT	-	NT
<i>Apa</i> I	-	NT	-	NT
<i>Apa</i> L I	+	-	-	NT
<i>Bal</i> I	-	NT	+	-
<i>Bam</i> H I	-	NT	-	NT
<i>Ban</i> II	-	NT	-	NT
<i>Bcl</i> T130 I	+	+	-	-
<i>Bcn</i> I	+	+	-	NT
<i>Bgl</i> I	-	NT	+	-
<i>Bgl</i> II	+	-	+	-
<i>Bln</i> I	+	+	-	NT
<i>Bme</i> T110 I	-	NT	-	NT
<i>Bmg</i> T120 I	+	+	-	NT
<i>Bpu</i> 1102 I	+	+	+	-
<i>Bsp</i> T104 I	+	+	-	-
<i>Bsp</i> T107 I	-	NT	-	NT
<i>Bsp</i> 1286 I	-	NT	-	NT
<i>Bsp</i> 1407 I	+	-	+	-
<i>Bss</i> H II	+	-	-	NT
<i>Bst</i> P I	NT	+	-	NT
<i>Bst</i> X I	-	NT	-	NT
<i>Bst</i> 1107 I	+	+	+	-
<i>Cfr</i> 10 I	+	+	+	-
<i>Cla</i> I	-	NT	-	NT
<i>Cpo</i> I	-	NT	-	NT
<i>Dpn</i> I	-	NT	-	NT
<i>Dra</i> I	-	NT	-	NT
<i>Eae</i> I	-	NT	-	NT
<i>Eam</i> 1105 I	-	NT	+	-
<i>Eco</i> O65 I	+	-	+	-
<i>Eco</i> O109 I	-	NT	-	NT
<i>Eco</i> R I	-	NT	-	NT
<i>Eco</i> R V	+	-	+	-
<i>Eco</i> T14 I	-	NT	-	NT
<i>Eco</i> T22 I	-	NT	-	NT
<i>Eco</i> 52 I	-	NT	+	-
<i>Eco</i> 81 I	+	-	-	NT
<i>Fba</i> I	+	+	-	NT
<i>Fok</i> I	-	NT	+	-
<i>Hae</i> II	-	NT	-	NT
<i>Hae</i> III	+	-	-	NT
<i>Hap</i> II	+	-	+	-

제한효소	60℃ 15 min	70℃ 15 min	Ethanol 침전	Phenol 처리
<i>Hha</i> I	+	-	-	NT
<i>Hinc</i> II	+	-	-	NT
<i>Hind</i> III	+	-	-	NT
<i>Hinf</i> I	+	-	-	NT
<i>Hin</i> 1 I	-	NT	+	-
<i>Hpa</i> I	-	NT	-	NT
<i>Kpn</i> I	-	NT	-	NT
<i>Mbo</i> I	+	-	-	NT
<i>Mbo</i> II	+	-	-	NT
<i>Mfl</i> I	+	+	+	-
<i>Mlu</i> I	+	+	-	NT
<i>Msp</i> I	-	NT	+	-
<i>Mun</i> I	+	-	+	-
<i>Nae</i> I	-	NT	-	NT
<i>Nco</i> I	+	-	+	-
<i>Nde</i> I	+	-	-	NT
<i>Nhe</i> I	+	-	-	NT
<i>Not</i> I	+	+	+	-
<i>Nru</i> I	-	NT	+	-
<i>Nsb</i> I	+	-	+	-
<i>Pma</i> C I	-	NT	-	NT
<i>Psh</i> A I	-	NT	-	NT
<i>Psh</i> B I	+	-	-	NT
<i>Psp</i> 1406 I	-	NT	+	-
<i>Pst</i> I	-	NT	-	NT
<i>Pvu</i> I	-	NT	-	NT
<i>Pvu</i> II	+	+	+	-
<i>Sac</i> I	-	NT	-	NT
<i>Sac</i> II	+	-	+	-
<i>Sal</i> I	-	NT	-	NT
<i>Sau</i> 8A I	+	-	-	NT
<i>Sca</i> I	-	NT	-	NT
<i>Sfi</i> I	+	-	+	-
<i>Sma</i> I	-	NT	+	-
<i>Smi</i> I	+	+	+	-
<i>Sna</i> B I	-	NT	-	NT
<i>Spe</i> I	-	NT	-	NT
<i>Sph</i> I	-	NT	-	NT
<i>Sse</i> 8387 I	-	NT	-	NT
<i>Ssp</i> I	-	NT	-	NT
<i>Stu</i> I	-	NT	+	-
<i>Taq</i> I	NT	+	+	-
<i>Tth</i> 111 I	NT	+	-	NT
<i>Var</i> 91 I	-	NT	+	-
<i>Vpa</i> K11B I	+	NT	+	-
<i>Xba</i> I	-	NT	+	-
<i>Xho</i> I	+	+	-	NT
<i>Xsp</i> I	+	+	+	-

+ : 잔존활성존재 - : 잔존활성없음 NT : 미시험

Basal Buffer 조성

Takara는 최적의 Universal Buffer로 효소활성을 측정하여 표시하는 시스템을 채용하고 있다. 이에 추가하여 각각의 효소에 독자적인 Basal Buffer 에서 효소의 상대활성을 표시하고 있다 (F-6 페이지). 「Universal buffer · Basal buffer 에 의한 제한효소 활성표시 시스템」 참조. 이 Basal buffer 조성을 일람표로 정리하였다.

F-a
제한효소

제한효소	Tris-HCl (mM)	pH (25℃)	MgCl ₂ (mM)	2-ME (mM)	NaCl (mM)	KCl (mM)	BSA (%)	Triton (%)	Others (mM)	반응온도 (℃)
Aat II	10	8,0	10	DTT 0,5	—	40	0,01	—	—	37
Acc I	10	7,5	7	7	60	—	0,01	—	—	37
Acc II	10	7,5	7	7	60	—	0,01	—	—	37
Acc III	10	8,5	7	7	200	—	—	—	—	60
Afa I	10	8,0	7	7	50	—	0,01	—	—	37
Afl II	10	8,0	7	7	—	40	0,01	—	—	37
Alu I	10	7,5	7	7	20	—	—	—	—	37
Aor13H I	10	8,5	7	—	—	100	0,01	—	—	55
Aor51H I	10	8,0	7	7	—	60	—	—	—	37
Apa I	10	7,5	7	7	—	—	0,01	—	—	37
ApaL I	10	8,0	7	7	50	—	0,01	—	—	37
Bal I	20	8,5	7	7	—	—	0,01	—	—	37
BamH I	10	8,0	7	2	100	—	0,01	—	—	30
Ban II	10	8,0	7	7	—	50	0,01	—	—	37
BclT130 I	20	8,5	10	DTT 1	80	—	—	—	—	37
Bcn I	20	8,2	10	DTT 1	60	—	0,01	—	—	37
Bgl I	20	8,5	10	DTT 1	—	150	—	—	—	37
Bgl II	10	7,5	7	7	100	—	—	—	—	37
Bln I	10	7,5	7	7	—	150	0,01	—	—	37
BmeT110 I	50	8,5	10	—	150	—	—	—	DTT 1	45
BmgT120 I	50	7,5	10	10	150	—	—	—	—	60
Bpu1102 I	20	8,2	10	DTT 1	60	—	0,01	—	—	37
BspT104 I	10	7,5	10	—	20	—	—	—	DTT 1	37
BspT107 I	20	8,5	10	DTT 1	—	100	—	—	—	37
Bsp1286 I	10	7,5	7	7	—	—	—	—	—	30
Bsp1407 I	10	7,5	7	—	—	100	—	—	—	37
BssH II	10	7,5	10	DTT 1	50	—	—	—	—	50
Bst P I	50	8,0	7	7	100	—	—	—	—	60
Bst X I	10	7,5	7	7	200	—	—	—	—	45
Bst1107 I	20	8,5	10	DTT 1	—	100	—	—	—	37
Cfr10 I	20	8,5	—	—	—	100	—	0,02	MgSO ₄ 3	37
Cla I	10	8,0	7	—	50	—	0,01	—	—	30
Cpo I	10	8,0	7	7	100	—	0,01	—	—	30
Dra I	10	7,5	7	7	60	—	0,01	—	—	37
Eae I	10	8,0	7	7	40	—	0,01	—	—	37
Eam1105 I	20	8,5	—	—	—	100	—	0,02	MgSO ₄ 3	37
EcoO65 I	10	7,5	7	7	100	—	—	—	—	37
EcoO109 I	10	8,0	7	7	—	40	—	—	—	37
EcoR I	100	7,5	7	7	50	—	0,01	—	—	37
EcoR V	10	7,5	7	7	150	—	0,01	—	—	37
EcoT14 I	10	8,0	7	7	100	—	0,01	—	—	37
EcoT22 I	10	8,0	7	—	150	—	—	—	—	37
Eco52 I	10	8,9	3	—	100	—	0,01	—	—	37
Eco81 I	10	8,5	7	7	—	20	—	—	—	37
Fba I	10	8,0	7	7	—	150	—	—	—	37
Fok I	10	7,5	7	7	60	—	0,01	—	—	37

제한효소	Tris-HCl (mM)	pH (25℃)	MgCl ₂ (mM)	2-ME (mM)	NaCl (mM)	KCl (mM)	BSA (%)	Triton (%)	Others (mM)	반응온도 (℃)
<i>Hae</i> II	10	7,5	7	7	60	—	—	—	—	37
<i>Hae</i> III	10	7,5	7	7	60	—	—	—	—	37
<i>Hap</i> II	10	7,5	7	7	—	—	—	—	—	37
<i>Hha</i> I	10	7,5	7	7	—	—	0,01	—	—	37
<i>Hinc</i> II	10	8,0	7	7	60	—	—	—	—	37
<i>Hind</i> III	10	7,5	7	—	60	—	—	—	—	37
<i>Hinf</i> I	10	7,5	7	7	100	—	—	—	—	37
<i>Hin</i> 1 I	10	9,1	7	—	50	—	0,01	—	—	37
<i>Hpa</i> I	10	7,5	7	7	—	100	0,01	—	—	37
<i>Kpn</i> I	10	7,5	7	7	—	—	—	—	—	37
<i>Mbo</i> I	10	8,0	7	7	—	150	0,01	—	—	37
<i>Mbo</i> II	10	7,5	7	7	—	10	0,01	—	—	37
<i>Mfl</i> I	10	8,0	7	7	—	—	0,01	—	—	37
<i>Mlu</i> I	10	7,5	7	7	150	—	—	—	—	37
<i>Msp</i> I	10	7,4	10	10	60	—	0,01	—	—	37
<i>Mun</i> I	10	7,5	10	DTT 1	50	—	0,01	—	—	37
<i>Nae</i> I	10	8,0	7	7	20	—	0,01	—	—	37
<i>Nco</i> I	10	8,9	3	—	100	—	0,01	—	—	37
<i>Nde</i> I	10	8,0	7	7	100	—	—	—	—	37
<i>Nhe</i> I	10	7,5	7	7	50	—	0,01	—	—	37
<i>Not</i> I	10	7,5	7	7	150	—	0,01	0,01	—	37
<i>Nru</i> I	10	7,5	7	7	—	150	0,01	—	—	37
<i>Pma</i> C I	10	7,5	7	7	20	—	—	—	—	37
<i>Psh</i> A I	10	8,5	7	7	—	60	—	—	—	37
<i>Psh</i> B I	10	8,5	10	DTT 1	50	—	—	—	—	37
<i>Psp</i> 1406 I	10	7,5	7	—	—	100	—	—	—	37
<i>Pst</i> I	20	7,5	10	—	100	—	0,01	—	—	37
<i>Pvu</i> I	10	8,0	7	7	—	150	0,01	—	—	37
<i>Pvu</i> II	10	7,5	7	7	60	—	—	—	—	37
<i>Sac</i> I	10	8,0	7	7	—	—	0,01	—	—	37
<i>Sac</i> II	10	7,5	10	DTT 1	—	—	—	—	—	37
<i>Sal</i> I	10	7,5	7	7	175	—	0,01	—	—	37
<i>Sau</i> 8A I	10	7,5	7	—	100	—	—	—	—	37
<i>Sca</i> I	10	7,5	7	7	125	—	0,01	—	—	37
<i>Sfi</i> I	10	7,5	10	DTT 1	50	—	—	—	—	50
<i>Sma</i> I	10	8,0	7	7	—	20	0,01	—	—	30
<i>Smi</i> I	50	7,5	10	—	100	—	0,01	—	—	30
<i>Sna</i> B I	10	8,0	7	—	50	—	0,01	—	—	37
<i>Spe</i> I	10	7,5	7	7	80	—	0,01	—	—	37
<i>Sph</i> I	10	8,0	7	7	150	—	0,01	—	—	37
<i>Sse</i> 8387 I	10	7,5	7	7	—	80	—	—	—	37
<i>Ssp</i> I	10	7,5	10	DTT 1	100	—	—	—	—	37
<i>Stu</i> I	10	8,0	7	7	100	—	0,01	—	—	37
<i>Taq</i> I	10	8,3	5	—	100	—	0,01	—	—	65
<i>Tth</i> 111 I	20	7,5	10	10	50	—	—	—	—	65
<i>Var</i> 91 I	10	8,5	10	DTT 1	100	—	—	—	—	37
<i>Vpa</i> K11B I	20	7,5	7	7	—	200	—	—	—	30
<i>Xba</i> I	10	7,5	7	7	100	—	0,01	—	—	37
<i>Xho</i> I	10	7,5	7	7	100	—	—	—	—	37
<i>Xsp</i> I	20	8,5	10	DTT 1	—	100	—	—	—	37

제한효소	Tris-acetate (mM)	pH (37℃)	Magnesium acetate (mM)	2-ME (mM)	NaCl (mM)	KCl (mM)	BSA (%)	Triton (%)	Others (mM)	반응온도 (℃)
<i>Nsb</i> I	33	7,9	10	—	—	66	0,1	—	—	37

Basal Buffer의 염농도가 효소활성에 미치는 영향

Basal buffer의 염농도와 효소활성의 관계를 아래 표와 같이 정리하였다. 염 이외의 buffer 조성과 반응 조건은 Basal buffer 에 기재되어 있는 것과 같다. 수치는 활성측정 buffer 에서의 효소활성을 100으로 하였을 때의 상대활성으로 나타낸 것이다.

1. 최적 염농도가 낮은 효소군

■는 Takara Basal buffer의 염농도를 나타낸다.

제한효소	염	농도 (mM)											반응온도 (°C)	pH (Tris) at 25°C	
		0	10	20	40	50	60	80	100	125	150	175			
Acc II	NaCl	200		160	160		160		30		<20			37	7.5
	KCl	200		200	200		160		60		<20				(10 mM)
Afa I	NaCl	50		100		100		80	80		30			37	8.0
	KCl	50		100		100		100	120		30				(10 mM)
Alu I	NaCl	120		120	120		120		120		40			37	7.5
	KCl	120		100	100		100		100		30				(10 mM)
Apa I	NaCl	120	120	80	60		30		<10					37	7.5
	KCl	120	120	120	60		40		<10						(10 mM)
ApaL I	NaCl	250		200	120	120	100	50	10					37	8.0
	KCl	250		200	120	120	50	40	10						(10 mM)
Bal I	NaCl	100		100	50		30	10	10					37	8.0
	KCl	100		100	60		60	10	10						(20 mM)
BspT104 I	NaCl	80		100	60		30	20	<20					37	7.5
	KCl	80		80	60		30	20	<20						(10 mM)
Bsp1286 I	NaCl	100	70	70	40			10	<10					37	7.5
	KCl	100	100	100	50			10	<10						(10 mM)
BssH II	NaCl	100		120	100	100	100	100	80		80			30	7.5
	KCl	100		120	100	100	100	60	60		60				(10 mM)
Hap II	NaCl	80		60	50		50		20		<10			50	7.5
	KCl	80		100	80		60		30		<10				(10 mM)
Hha I	NaCl	100		100	100		100		100		100			37	7.5
	KCl	100		100	100		100		100		100				(10 mM)
Kpn I	NaCl	80		80	50		30		<5		0			37	7.5
	KCl	80		80	50		30		<5		0				(10 mM)
Mbo II	NaCl	80	80	70	50			30			<20			37	7.5
	KCl	80	100	80	70			40			<20				(10 mM)
Mfl I	NaCl	100	100	100	100			60			0			37	8.0
	KCl	100	100	100	100			90			50				(10 mM)
Msp I	NaCl	100		100	100		100		60		<20			37	7.4
	KCl	100		100	100		100		40		<20				(10 mM)
Mun I	NaCl	150		150		100		50	40		<20			37	7.5
	KCl	150		150		100		50	40		<20				(10 mM)
Nae I	NaCl	100		120	80		50		0					37	8.0
	KCl	100		120	80		50		0						(10 mM)
Nhe I	NaCl	120		150		100		60	40		10			37	7.5
	KCl	120		200		200		150	150		40				(10 mM)
Nsb I	NaCl	100				100			30		<20			37	7.9
	KCl	100				100			50		<20				(33 mM)*
PmaC I	NaCl	100		100	100		70	30	<20		0			37	7.5
	KCl	100		100	100		70	30	<20		0				(10 mM)
Pvu II	NaCl	100		120	120		100		30		10			37	7.5
	KCl	100		100	70		60		50		20				(10 mM)
Sac I	NaCl	80		80	80		60		20		10			37	8.0
	KCl	80		80	80		60		20		10				(10 mM)
Sac II	NaCl	40		40		20	<10	<10	<10		<10			37	7.5
	KCl	40		40		20	<10	<10	<10		<10				(10mM)

*Tris-acetate (37°C)

2. 최적 염농도가 중간인 효소군

■는 Takara Basal buffer의 염농도를 나타낸다.

제한효소	염	농도 (mM)												반응온도 (°C)	pH(Tris) at 25°C
		0	20	40	50	60	80	100	125	150	175	200			
Aat II	NaCl	20	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	37	8,0
	KCl	20	100	120	90	80	20	10	<10	<10	<10	<10	<10	37	(10 mM)
Acc I	NaCl	20	40	80		80	60	20	<10	<10	<10	<10	37	7,5	
	KCl	20	40	60		80	30	<10	<10	<10	<10	<10	37	(10 mM)	
Afl II	NaCl	60	80	100		80	60	0					37	8,0	
	KCl	60	80	120		80	80	60					37	(10 mM)	
Aor51H I	NaCl	50	70	100		120	120	100		<30	<30	<30	37	8,0	
	KCl	50	100	120		120	120	100		<30	<30	<30	37	(10 mM)	
Ban II	NaCl	80	80	80	80	100	100	100		60	60	60	37	8,0	
	KCl	80	80	100	100	100	80	80		80	80	80	37	(10 mM)	
BclT130I	NaCl	60			80		100	80	80	80	60	60	37	8,5	
	KCl	60			60		100	100	60	60	60	60	37	(20 mM)	
Bcn I	NaCl	40	60	60		100	60	60					37	8,2	
	KCl	40	50	60		80	60	50					37	(20 mM)	
Bpu1102 I	NaCl	60	60	60		100	30	30					37	8,2	
	KCl	60	30	30		30	30	30					37	(20 mM)	
Bsp1407 I	NaCl	<10	40		60		60	80		40		<10	37	7,5	
	KCl	<10	40		80		80	100		60		20	37	(10 mM)	
BstPI	NaCl	20	30		60		70	100		50		20	37	8,0	
	KCl	20	20		60		70	100		50		10	37	(50 mM)	
Cpo I	NaCl	10	20		50		60	100		<10			60	8,0	
	KCl	10	20		40		60	100		<10			60	(10 mM)	
Dra I	NaCl	50	60	80		80		80		50			30	7,5	
	KCl	50	60	80		80		80		50			30	(10 mM)	
Eae I	NaCl	120	160	160		160	80	20		<20			37	8,0	
	KCl	120	160	160		160	80	20		<20			37	(10 mM)	
Eam1105 I	NaCl	50	80		150		100	80		<10			37	8,5	
	KCl	50	80		150		100	100		<10			37	(20 mM)	
EcoO65 I	NaCl	40	50		70		120	100		20		5	37	7,5	
	KCl	40	50		70		120	100		20		5	37	(10 mM)	
EcoO109 I	NaCl	100	100	120		120	100	60		0			37	8,0	
	KCl	100	120	160		120	120	80		0			37	(10 mM)	
EcoR I	NaCl	120	120	120	120	100	50	30		<10			37	7,5	
	KCl	120	120	120	120	80	40	10		<10			37	(100 mM)	
Eco81 I	NaCl	30	100	100		30	0	0					37	8,5	
	KCl	30	160	160		60	20	0					37	(10 mM)	
Fok I	NaCl	10	20	70		100	100	50		30			37	7,5	
	KCl	10	40	100		100	100	100		40			37	(10 mM)	
Hae II	NaCl	80	80	80		100	80	50		<20			37	7,5	
	KCl	80	80	100		120	100	100		40			37	(10 mM)	
Hae III	NaCl	60	70	80		100	100	100		80			37	7,5	
	KCl	60	70	80		100	100	100		100			37	(10 mM)	
Hinc II	NaCl	30	50	80		80	100	80		40			37	8,0	
	KCl	30	50	80		100	100	100		40			37	(10 mM)	
Hind III	NaCl	20	50	60	80	80	80	60		<10			37	7,5	
	KCl	20	50	80	80	80	80	60		<10			37	(10 mM)	
Hin1 I	NaCl	80	160		160		160	120		40		<10	37	9,1	
	KCl	80	80		80		80	60		40		10	37	(10 mM)	
Nco I	NaCl	100	120		160		160	160		40		<10	37	8,9	
	KCl	100	120		160		160	160		30		<10	37	(10 mM)	
Nde I	NaCl	<10	10		30		100	100		50		20	37	8,0	
	KCl	<10	<10		30		100	100		60		20	37	(10 mM)	

F-a
제한효소

제한효소	염	농도 (mM)											반응온도 (°C)	pH (Tris) at 25°C	
		0	20	40	50	60	80	100	125	150	175	200			
<i>PshA</i> I	NaCl	60	80	80		100	80	40		<20				37	8.5 (10 mM)
	KCl	60	100	160		160	160	120		80					
<i>PshB</i> I	NaCl	40	100		100		60	20		<20		<20		37	8.5 (10 mM)
	KCl	40	100		80		50	<20		<20		<20			
<i>Psp1406</i> I	NaCl	10	20		40		40	30		10		<10		37	7.5 (10 mM)
	KCl	10	20		60		100	100		80		20			
<i>Sfi</i> I	NaCl	20	60		100		100	40		<20		<20		50	7.5 (10 mM)
	KCl	20	60		100		60	40		<20		<20			
<i>Sma</i> I	NaCl	30	10	0		0		0		0				30	8.0 (10 mM)
	KCl	30	100	100		100		50		0					
<i>SnaB</i> I	NaCl	50	100		100		100	60						37	8.0 (10 mM)
	KCl	50	60		80		50	20							
<i>Spe</i> I	NaCl	80	100	120		100	100	80		40				37	7.5 (10 mM)
	KCl	80	100	100		120	100	80		40					
<i>Sse8387</i> I	NaCl	40	50		70		70	30		20				37	7.5 (10 mM)
	KCl	40	50		80		100	70		<20					
<i>Ssp</i> I	NaCl	10	30		50		100	100		20		<10		37	7.5 (10 mM)
	KCl	10	30		60		100	80		20		<10			
<i>Taq</i> I	NaCl	20			100			100		50		<10		65	8.3 (10 mM)
	KCl	20			80			100		60		10			
<i>Tth111</i> I	NaCl	30	40	60	120	90	60	40		<10				65	7.5 (20 mM)
	KCl	30	40	50		90	50	40		<10					
<i>Var91</i> I	NaCl	<10	10		80		100	100		80		<20		37	8.5 (10 mM)
	KCl	<10	10		60		100	100		80		<20			
<i>Xba</i> I	NaCl	30			80			120		40		<10		37	7.5 (10 mM)
	KCl	30			80			80		40		10			

3. 최적 염농도가 높은 효소군

■는 Takara Basal buffer의 염농도를 나타낸다.

제한효소	염	농도 (mM)											반응온도 (°C)	pH (Tris) at 25°C	
		0	20	40	50	60	80	100	125	150	175	200			
<i>Acc</i> III	NaCl	<10	<10		10		40	80		120		100		60	8.5 (10 mM)
	KCl	<10	<10		10		40	120		160		120			
<i>Aor13H</i> I	NaCl	<20	20	70		70	70	100		50		<20		55	8.5 (10 mM)
	KCl	<20	20	70		70	70	100		60		<20			
<i>Bam</i> HI	NaCl	<10			40			80		80		40		30	8.0 (10 mM)
	KCl	<10			50			50		80		30			
<i>Bgl</i> I	NaCl	<10	<10		10		30	30		50		20		37	8.5 (20 mM)
	KCl	<10	<10		10		30	50		100		50			
<i>Bgl</i> II	NaCl	<10			20			100		200		200		37	7.5 (10 mM)
	KCl	<10			20			100		120		120			
<i>Bln</i> I	NaCl	<10			10			50		80		100		37	7.5 (10 mM)
	KCl	<10			20			100		120		140			
<i>BmeT110</i> I	NaCl	<20			20			70		150		150		37	8.5 (50 mM)
	KCl	<20			<20			60		100		120			
<i>BmgT120</i> I	NaCl	<20			60			160		250		60		37	7.5 (50 mM)
	KCl	<20			20			20		50		80			
<i>BspT107</i> I	NaCl	<20			30			80		80		40		37	8.5 (20 mM)
	KCl	<20			40			100		100		20			
<i>BstX</i> I	NaCl	40			40			60		80		120		45	7.5 (10 mM)
	KCl	40			40			40		80		100			
<i>Bst1107</i> I	NaCl	10	30		60		80	120		100		20		37	8.5 (20 mM)
	KCl	10	50		80		80	100		80		30			
<i>Cfr10</i> I	NaCl	40			60			80		20				37	8.5 (20 mM)
	KCl	40			60			100		80					
<i>Cla</i> I	NaCl	60	60	100	100	100	120	150		200		120		30	8.0 (10 mM)
	KCl	60	60	80	100	100	150	200		200		120			
<i>EcoR</i> V	NaCl	0			20			80		100		50		37	7.5 (10 mM)
	KCl	0			20			70		80		80			
<i>EcoT14</i> I	NaCl	0			20			100		100		50		37	8.0 (10 mM)
	KCl	0			20			60		90		50			

제한효소	염	농도 (mM)										반응온도 (°C)	pH (Tris) at 25°C	
		0	20	40	50	60	80	100	125	150	175			200
<i>EcoT22 I</i>	NaCl	30	30	40		40	80	80		120		60	37	8.0 (10 mM)
	KCl	30	30	40		40	60	80		120		60		
<i>Eco52 I</i>	NaCl	0			10			100		20		0	37	8.9 (10 mM)
	KCl	0			10			70		20		0		
<i>Fba I</i>	NaCl	<10	<10		<10		20	50		100		20	37	8.0 (10 mM)
	KCl	<10	<10		<10		20	50		100		30		
<i>Hinf I</i>	NaCl	<20			80			100		120		100	37	7.5 (10 mM)
	KCl	<20			80			100		120		100		
<i>Hpa I</i>	NaCl	10			30			10		10		10	37	7.5 (10 mM)
	KCl	10			30			100		70		30		
<i>Mbo I</i>	NaCl	30			40			50		80		70	37	8.0 (10 mM)
	KCl	30			40			70		100		80		
<i>Mlu I</i>	NaCl	40			50			80		100		100	37	7.5 (10 mM)
	KCl	40			50			70		80		100		
<i>Not I</i>	NaCl	0	5		10		40	60		100		20	37	7.5 (10 mM)
	KCl	0	0		5		30	50		100		20		
<i>Nru I</i>	NaCl	0			<30			30		30		<30	37	7.5 (10 mM)
	KCl	0			<30			30		100		100		
<i>Pst I</i>	NaCl	30	50	60		60	60	80		140			37	7.5 (20 mM)
	KCl	30	60	80		80	80	90		140				
<i>Pvu I</i>	NaCl	10			50			60		60		50	37	8.0 (10 mM)
	KCl	10			40			70		120		250		
<i>Sal I</i>	NaCl	0			0			10		60	120	100	37	7.5 (10 mM)
	KCl	0			0			30		60	100	120		
<i>Sau3A I</i>	NaCl	50			80			100		80		10	37	7.5 (10 mM)
	KCl	50			100			100		100		100		
<i>Sca I</i>	NaCl	0			10			50	100	80		20	37	7.5 (10 mM)
	KCl	0			5			50	100	80		40		
<i>Smi I</i>	NaCl	<20			30		50	100		200		100	37	7.5 (50 mM)
	KCl	<20			30		50	50		200		200		
<i>Sph I</i>	NaCl	10	20		30		40	70		100		100	30	8.0 (10 mM)
	KCl	10	20		20		40	60		100		30		
<i>Stu I</i>	NaCl	50			100			100	80	30		<10	37	8.0 (10 mM)
	KCl	50			100			100	80	30		<10		
<i>VpaK11B I</i>	NaCl	<10			10			30		50		70	37	7.5 (20 mM)
	KCl	<10			10			30		70		100		
<i>Xho I</i>	NaCl	10			20			100		70		10	30	7.5 (10 mM)
	KCl	10			30			70		60		10		
<i>Xsp I</i>	NaCl	40			40			20		<20		<20	37	8.5 (20 mM)
	KCl	40			80			100		20		20		

제한효소 형상 일람

각 효소의 보존원충액과 조성은 아래의 표와 같다.

보존 원충액	Tris-HCl (mM)	KPO ₄ (mM)	pH (25℃)	KCl (mM)	NaCl (mM)	MgCl ₂ (mM)	DTT (mM)	EDTA (mM)	Triton X-100 (%)	BSA (%)	Glycerol (%)	Ethylene Glycol (%)
1	10	—	7.5	—	100	—	—	0.1	—	0.01	50	—
2	—	10	7.4	—	200	—	1	1	—	0.02	50	—
3	10	—	7.5	100	—	—	1	0.1	—	0.01	50	—
4	10	—	7.5	100	—	—	1	0.1	—	0.02	50	—
5	10	—	7.5	50	—	—	1	0.1	—	0.01	50	—
6	10	—	7.5	200	—	—	1	0.1	—	0.01	50	—
7	10	—	7.5	200	—	—	1	0.1	0.15	0.02	50	—
8	10	—	7.5	400	—	—	1	0.1	—	0.01	50	—
9	10	—	7.5	400	—	—	1	0.1	0.15	0.01	50	—
10	10	—	7.5	—	50	—	1	0.1	—	0.01	50	—
11	10	—	8.0	100	—	—	1	0.1	0.15	0.01	50	—
12	10	—	8.0	100	—	—	1	0.1	—	0.02	50	—
13	10	—	8.0	200	—	—	1	0.1	—	0.01	50	—
14	10	—	7.5	100	—	—	1	0.1	0.15	0.01	50	—
15	10	—	7.5	100	—	—	1	1	—	0.01	50	—
16	10	—	7.4	100	—	—	1	1	—	0.02	50	—
17	10	—	7.5	100	—	10	1	0.1	—	0.01	50	—
18	10	—	7.5	—	100	10	1	0.1	0.15	0.01	50	—
19	10	—	7.5	—	—	—	1	0.1	0.15	0.02	40	—
20	10	—	7.5	300	—	CaCl ₂ 5	1	0.1	—	0.05	50	—
21	10	—	7.5	300	—	—	1	0.1	—	0.02	50	—
22	10	—	7.5	100	—	MnCl ₂ 1	1	0.1	0.15	0.01	50	—

T_a

제한효소

보존원충액	효소명									
1	<i>Smi</i> I									
2	<i>Bcn</i> I	<i>Cfr</i> 10 I	<i>Hin</i> 1 I	<i>Msp</i> I						
3	<i>Acc</i> III	<i>Bln</i> I	<i>Nco</i> I							
4	<i>Afa</i> I	<i>Aor</i> 13H I	<i>Cpo</i> I	<i>Mbo</i> II	<i>Nde</i> I	<i>Psh</i> A I	<i>Psh</i> B I	<i>Stu</i> I		
5	<i>Sca</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Ssp</i> I	<i>Xba</i> I						
6	<i>Bal</i> I	<i>Eco</i> T14 I								
7	<i>Aor</i> 51H I	<i>Bmg</i> T120 I	<i>Tth</i> 111 I							
8	<i>Hinc</i> II	<i>Hind</i> III	<i>Mlu</i> I	<i>Sal</i> I	<i>Vpa</i> k11B I					
9	<i>Bam</i> H I	<i>Bst</i> X I	<i>Eco</i> O109 I	<i>Hae</i> III	<i>Bsp</i> T104 I					
10	<i>Afl</i> II	<i>Sac</i> II								
11	<i>Pvu</i> I									
12	<i>Eco</i> 52 I	<i>Nru</i> I								
13	<i>Bgl</i> I									
14		<i>Acc</i> I	<i>Acc</i> II	<i>Alu</i> I	<i>Apa</i> I	<i>Apa</i> L I		<i>Ban</i> II		
	<i>Bme</i> T110 I	<i>Bsp</i> T107 I	<i>Bsp</i> 1286 I	<i>Bst</i> H II	<i>Bst</i> P I	<i>Cla</i> I	<i>Dra</i> I	<i>Eae</i> I	<i>Eco</i> O65 I	
	<i>Eco</i> R I	<i>Eco</i> R V	<i>Fba</i> I	<i>Fok</i> I	<i>Hap</i> II	<i>Hha</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Hpa</i> I	<i>Kpn</i> I	
	<i>Mbo</i> I	<i>Mfl</i> I	<i>Nae</i> I	<i>Nhe</i> I	<i>Not</i> I	<i>Pma</i> C I	<i>Pvu</i> II	<i>Sac</i> I	<i>Sau</i> 3A I	
	<i>Sna</i> B I	<i>Spe</i> I	<i>Sph</i> I	<i>Sse</i> 8387 I	<i>Xho</i> I	<i>Xsp</i> I				
15	<i>Hae</i> II									
16	<i>Bpu</i> 1102 I	<i>Bsp</i> 1407 I	<i>Bst</i> 1107 I	<i>Eam</i> 1105 I	<i>Eco</i> 81 I	<i>Mun</i> I	<i>Nsb</i> I	<i>Psp</i> 1406 I	<i>Var</i> 91 I	
17	<i>Bgl</i> II	<i>Eco</i> T22 I								
18	<i>Pst</i> I	<i>Bc</i> T130 I								
19	<i>Sfi</i> I									
20	<i>Taq</i> I									
21	<i>Dpn</i> I									
22	<i>Aat</i> II									

Aat II



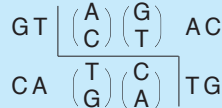
Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Aat II	TKR	1112A	100 U	80,000원
Aat II	TKR	1112B (A×5)	500 U	360,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : T+BSA
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.

Acc I



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Acc I	TKR	1001A	100 U	79,000원
Acc I	TKR	1001B (A×5)	500 U	355,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ **Methyl화의 영향** 인식부위 또는 인식부위에 인접한 염기서열에 따라서는 CG methylase의 영향을 받는 경우도 있다.

Acc II (FnuD II)

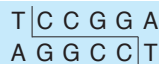


제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Acc II (FnuD II)	TKR	1002A	100 U	83,000원
Acc II (FnuD II)	TKR	1002B (A×5)	500 U	373,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.

Acc III (BspM II)



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Acc III (BspM II)	TKR	1113A	20 U	116,000원
Acc III (BspM II)	TKR	1113B (A×5)	100 U	522,000원

- 농도 : 2 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Acc III Buffer
- 반응온도 : 60 $^{\circ}$ C

■ **Methyl화의 영향** TC⁵⁰CGGA를 절단할 수 있으나, 절단속도는 1/75로 떨어진다. 인식서열에 인접한 염기서열에 따라서는 dam methylase의 영향을 받을 수 있다.

■ **pBR322의 절단** 시판하는 pBR322 중의 Acc III 인식서열 TCCGG^xA^x는 dam methylase에 의해 methyl화 되어 있으므로 거의 절단되지 않는다.

Afa I (Rsa I)

G T A C
C A T G

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Afa I (Rsa I)	TKR	1116A	1,000 U	69,000원
Afa I (Rsa I)	TKR	1116B (A×5)	5,000 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : T+BSA
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

인식부위에 인접한 염기서열에 따라서는 CG methylase의 영향을 받는 경우도 있다.

Afl II

C T T A A G
G A A T T C

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Afl II	TKR	1236A	200 U	134,000원
Afl II	TKR	1236B (A×5)	1,000 U	603,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M+BSA
- 반응온도 : 37℃

■ Ligation-Recutting Test

이 효소에 의해 생긴 돌출말단은 일반적으로 형성되는 4 염기 돌출 말단에 비해 효율이 떨어진다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.

Alu I

A G C T
T C G A

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Alu I	TKR	1004A	500 U	103,000원
Alu I	TKR	1004B (A×5)	2,500 U	463,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37℃

Aor13H I (BspM II, Acc III)

T C C G G A
A G G C C T



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Aor13H I (BspM II, Acc III)	TKR	1224A	1,000 U	194,000원
Aor13H I (BspM II, Acc III)	TKR	1224B (A×5)	5,000 U	873,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K+BSA
- 반응온도 : 55℃

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받는다.

Aor51H I (Eco47 III)

A G C | G C T
T C G | C G A



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Aor51H I (Eco 47 III)	TKR	1118A	400 U	138,000원
Aor51H I (Eco 47 III)	TKR	1118B (A×5)	2,000 U	621,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받는다.

Apa I

G G G C C | C
C | C C G G G

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Apa I	TKR	1005A	10,000 U	138,000원
Apa I (고농도 제품)	TKR	1005AH	10,000 U	138,000원
Apa I	TKR	1005B (A×5)	50,000 U	621,000원
Apa I (고농도 제품)	TKR	1005BH (AH×5)	50,000 U	621,000원

- 농도 : 15 U/ μ l (고농도 :50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

인식서열에 인접한 서열에 따라 dcm methylase, CG methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

ApaL I

G | T G C A C
C A C G T | G

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
ApaL I	TKR	1237A	600 U	89,000원
ApaL I	TKR	1237B (A×5)	3,000 U	400,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

인식서열에 인접한 서열에 따라 CG methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

Bal I

T G G | C C A
A C C | G G T



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bal I	TKR	1009A	20 U	98,000원
Bal I	TKR	1009B (A×5)	100 U	441,000원

- 농도 : 2 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Bal I Buffer + BSA
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

인식서열에 인접한 서열에 따라 dcm methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

■ pBR322의 절단

시판되는 pBR322중 Bal I 인식서열 TGG^xCCA의 C는 dcm methylase에 의해 methyl화 되어 있어 절단되기 어렵다.

F-a

제원호스

BamH I



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BamH I	TKR	1010A	10,000 U	69,000원
BamH I (고농도제품)	TKR	1010AH	10,000 U	69,000원
BamH I	TKR	1010B (A×5)	50,000 U	310,000원
BamH I (고농도제품)	TKR	1010BH (AH×5)	50,000 U	310,000원

- 농도 : 15 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 30 $^{\circ}$ C

■ Methyl화의 영향

dam methylase, *dcm* methylase 및 CG methylase의 영향을 받지 않는다.

■ Star 활성

고농도 glycerol, Mn²⁺ 존재, 저이온 농도 조건 하에서 인식서열의 특이성이 저하되는 수가 있다.

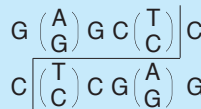
■ 사용상의 주의

37 $^{\circ}$ C 반응에서도 동등한 활성을 나타내나 30 $^{\circ}$ C에 비해 효소의 안정성이 조금 떨어진다.

F-a

제한효소

Ban II (HgiJ II)



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Ban II (HgiJ II)	TKR	1012A	2,000 U	163,000원
Ban II (HgiJ II)	TKR	1012B (A×5)	10,000 U	733,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

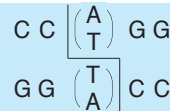
■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받지 않는다.

■ Star 활성

고농도 glycerol, 저이온 농도 존재하에서 인식서열의 특이성이 저하되는 경우가 있다.

BciI130 I (EcoR II, Mva I)



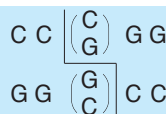
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BciI130 I (EcoR II, MVA I)	TKR	1232A	2,000 U	160,000원
BciI130 I (EcoR II, MVA I)	TKR	1232B (AX5)	10,000 U	720,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 보존 : -20 $^{\circ}$ C
- 활성 buffer : K

■ Methyl화의 영향

dcm methylase의 영향을 받지 않는다

Bcn I (Cau II)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bcn I (Cau II)	TKR	1019A	1,000 U	116,000원
Bcn I (Cau II)	TKR	1019B (A×5)	5,000 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Bcn I Buffer + BSA
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ Ligation-Recutting Test

이 효소가 절단한 DNA 단편은 그 말단 염기서열의 영향으로 거의 ligation 되지 않는다 (Janulatis personal communication).

Circular ligation 반응에 DNA Ligation Kit Ver.2.1를 사용할 경우 overnight 반응이 필요하다.

Bgl I



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bgl I	TKR	1020A	1,000 U	66,000원
Bgl I	TKR	1020B (A×5)	5,000 U	297,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Bgl I Buffer
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** : 인식서열에 인접한 서열에 따라 CG methylase의 영향을 받는 경우가 있다.
- **Star 활성** : 저이온 농도하에서 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Bgl II



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bgl II	TKR	1021A	2,000 U	83,000원
Bgl II (고농도제품)	TKR	1021AH	2,000 U	83,000원
Bgl II	TKR	1021B	10,000 U	373,000원
Bgl II (고농도제품)	TKR	1021BH (AH×5)	10,000 U	373,000원

- 농도 : 10 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** : *dam* methylase의 영향을 받지 않는다.

Bln I (Avr II)

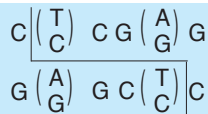


Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bln I (Avr II)	TKR	1022A	400 U	116,000원
Bln I (Avr II)	TKR	1022B (A×5)	2,000 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Ligation-Recutting Test** : 이 효소에 의해 생긴 돌출말단은 일반적인 4 염기 돌출 말단에 비해 효율이 떨어진다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.

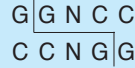
BmeT110 I (Ava I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BmeT110 I (Ava I)	TKR	1207A	500 U	100,000원
BmeT110 I (Ava I)	TKR	1207B (A×5)	2,500 U	450,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** : CG methylase의 영향을 받지 않는다.
- **Star 활성** : DMSO 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

BmgT120 I (Cfr 13 I, Asu I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BmgT120 I (Cfr13 I, Asu I)	TKR	1231A	1,000 U	141,000원
BmgT120 I (Cfr13 I, Asu I)	TKR	1231B (A×5)	5,000 U	634,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** : 인식서열에 인접한 염기서열에 따라 *dcm* methylase, CG methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

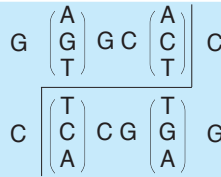
Bpu1102 I (Esp I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bpu1102 I (Esp I)	TKR	1023A	150 U	163,000원
Bpu1102 I (Esp I)	TKR	1023B (A×5)	750 U	733,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Bpu1102 I Buffer +BSA
- 반응온도 : 37℃
- **Ligation-Recutting Test** : 이 효소에 의해 생긴 돌출말단은 일반적으로 형성되는 3염기 돌출 말단에 비해 효율이 떨어진다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.

Bsp1286 I (Sdu I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bsp1286 I (Sdu I)	TKR	1024A	500 U	69,000원
Bsp1286 I (Sdu I)	TKR	1024B (A×5)	2,500 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 30℃
- **Methyl화의 영향** : CG methylase의 영향을 받지 않는다.
- **사용상의 주의** : 이 효소는 희석하면 불안정하므로 원액으로 사용할 것.

※ 본 제품은 이화학연구소의 특허 제품입니다.

Bsp1407 I



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bsp1407 I	TKR	1107A	300 U	116,000원
Bsp1407 I	TKR	1107B (A×5)	1,500 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : T+BSA
- 반응온도 : 37℃

BspT104 I (Asu II, Nsp V)

T T C G A A
A A G C T T



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BspT104 I (Asu II, Nsp V)	TKR	1225A	2,500 U	98,000원
BspT104 I (Asu II, Nsp V)	TKR	1225B (A×5)	12,500 U	441,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

■ 첨부 · 활성측정 buffer : L

■ 반응온도 : 37℃

■ Methylation의 영향

CG methylase의 영향을 받는다.

BspT107 I (Hgi C I)

G G (T) (A) C C
C C (A) (T) G G

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BspT107 I (Hgi C I)	TKR	1223A	1,000 U	98,000원
BspT107 I (Hgi C I)	TKR	1223B (A×5)	5,000 U	441,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

■ 첨부 · 활성측정 buffer : K

■ 반응온도 : 37℃

BssH II (BseP I)

G C G C G C
C G C G C G



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BssH II (BseP I)	TKR	1119A	300 U	98,000원
BssH II (BseP I)	TKR	1119B (A×5)	1,500 U	441,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

■ 첨부 · 활성측정 buffer : M

■ 반응온도 : 50℃

■ Methylation의 영향

CG methylase의 영향을 받는다.

Bst1107 I (Sna I)

G T A T A C
C A T A T G



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bst1107 I (Sna I)	TKR	1028A	150 U	228,000원
Bst1107 I (Sna I)	TKR	1028B (A×5)	750 U	1,026,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

■ 첨부 · 활성측정 buffer : K

■ 반응온도 : 37℃

■ Methylation의 영향

인식부위에 인접한 서열에 따라서 CG methylase의 영향을 받을 수 있다.

■ Star 활성

저이온 농도에서 인식서열의 특이성이 저하될 수 있다.

Bst P I (Bst E II, EcoO65 I)

G G T N A C C
C C A N T G G



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BstP I (BstE II, EcoO65 I)	TKR	1025A	2,000 U	138,000원
BstP I (BstE II, EcoO65 I)	TKR	1025B (A×5)	10,000 U	621,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

■ 첨부 · 활성측정 buffer : H

■ 반응온도 : 60℃

■ Methylation의 영향

CG methylase의 영향을 받지 않는다.

■ Star 활성

고농도 glycerol, 저이온 농도 하에서 인식서열의 특이성이 저하되는 경우가 있다.

F-a

제원호스

BstX I



Genome DNA Analysis

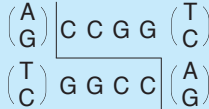


pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BstX I	TKR	1027A	1,000 U	83,000원
BstX I	TKR	1027B (A×5)	5,000 U	373,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 45 $^{\circ}$ C

Cfr 10 I



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Cfr10 I	TKR	1120A	200 U	116,000원
Cfr10 I	TKR	1120B (A×5)	1,000 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Cfr10 I Buffer
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.

F-a

제한효소

Cla I



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

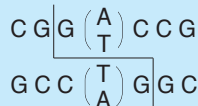
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Cla I	TKR	1034A	1,000 U	106,000원
Cla I (고농도제품)	TKR	1034AH	1,000 U	106,000원
Cla I	TKR	1034B (A×5)	5,000 U	477,000원
Cla I (고농도제품)	TKR	1034BH (AH×5)	5,000 U	477,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 30 $^{\circ}$ C

■ **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다. 또, 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 dam methylase의 영향을 받는 경우도 있다.

■ **사용상의 주의** 37 $^{\circ}$ C 반응에서도 동등한 효소활성을 나타낸다.

Cpo I (Rsr II)



Genome DNA Analysis

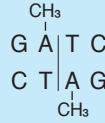
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Cpo I (Rsr II)	TKR	1035A	400 U	131,000원
Cpo I (Rsr II)	TKR	1035B (A×5)	2,000 U	589,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 30 $^{\circ}$ C

■ **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.

■ **사용상의 주의** 이 효소는 희석하면 불안정하므로 원액으로 사용할 것. 37 $^{\circ}$ C 반응에서의 효소활성은 50%로 떨어진다. 또, 반응액에 BSA를 최종농도 0.01%가 되도록 첨가하면, 상대활성이 30 $^{\circ}$ C 반응에서는 120%, 25 $^{\circ}$ C 반응에서는 160%정도 상승한다. 그리고 반응액에 BSA를 첨가하지 않으면 25 $^{\circ}$ C 반응에서 상대활성은 120%정도 상승한다.

Dpn I



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Dpn I	TKR	1235A	1000 U	66,000원
Dpn I	TKR	1235B (A×5)	5000 U	297,000원

- 농도 : 10 U/μl
- 첨부 · 활성측정 buffer : T
- 반응온도 : 37℃

- **Methyl화의 영향** G^mATC(methyl화된 A)는 절단하지만, GATC (methyl화되지 않은 A)는 절단하지 않는다. 일반적인 대장균 (dam⁺균주)에서 만들어진 DNA는 절단하지만, PCR산물은 절단하지 않는다. *dam* methylase의 영향은 받지 않는다.

Dra I (Aha III)



Genome DNA Analysis

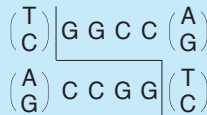
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Dra I (Aha III)	TKR	1037A	4,000 U	131,000원
Dra I (Aha III) (고농도제품)	TKR	1037AH	4,000 U	131,000원
Dra I (Aha III)	TKR	1037B (A×5)	20,000 U	589,000원
Dra I (Aha III) (고농도제품)	TKR	1037BH (AH×5)	20,000 U	589,000원

- 농도 : 15 U/μl
(고농도: 50 U/μl)
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃

F-a

제원호소

Eae I (Cfr I)

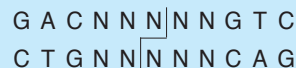


제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Eae I (Cfr I)	TKR	1123A	200 U	116,000원
Eae I (Cfr I)	TKR	1123B (A×5)	1,000 U	522,000원

- 농도 : 10 U/μl
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃

- **Methyl화의 영향** 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 *dcm* methylase, CG methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

Eam1105 I



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Eam1105 I	TKR	1124A	100 U	116,000원
Eam1105 I	TKR	1124B (A×5)	500 U	522,000원

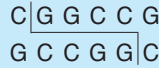
- 농도 : 10U/μl
- 첨부 · 활성측정 buffer : Eam1105 I Buffer
- 반응온도 : 37℃

- **Ligation-Recutting Test** 이 효소에 의해 생긴 돌출말단은 ligation 효율이 낮다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.

- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받지 않는다.

- **Star 활성** 고농도 glycerol, 알칼리 pH, 저이온 농도조건 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Eco52 I (Xma III)



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Eco52 I (Xma III)	TKR	1039A	200 U	116,000원
Eco52 I (Xma III)	TKR	1039B (A×5)	1,000 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Eco52 I Buffer + BSA
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** : CG methylase의 영향을 받는다.

Eco81 I (Sau I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Eco81 I (Sau I)	TKR	1131A	500 U	116,000원
Eco81 I (Sau I)	TKR	1131B (A×5)	2,500 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Ligation-Recutting Test** : 이 효소로 절단한 DNA 단편은 거의 ligation되지 않는다. 이 효소는 3', 5'-exonuclease, phosphatase 활성을 갖고 있지 않다. 그 원인은 DNA 단편의 말단 염기서열에 의한 것으로 생각된다 (Janulaitis personal communication). Circular ligation은 DNA Kit Ligation Ver.1 또는 Ver.2.1을 이용하여 overnight 반응이 필요하다.

EcoO65 I (Bst E II, Bst P I)

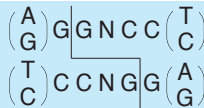


pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
EcoO65 I (Bst E II, Bst P I)	TKR	1135A	1,000 U	91,000원
EcoO65 I (Bst E II, Bst P I)	TKR	1135B (A×5)	5,000 U	409,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H+BSA
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** : CG methylase의 영향을 받지 않는다.
- **Star 활성** : 저이온 농도조건 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

EcoO109 I (Dra II)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
EcoO109 I (Dra II)	TKR	1043A	2,000 U	69,000원
EcoO109 I (Dra II)	TKR	1043B (A×5)	10,000 U	310,000원

- 농도 : 15 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** : 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 dcm methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

EcoR I



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
EcoR I	TKR	1040A	10,000 U	66,000원
EcoR I (고농도제품)	TKR	1040AH	10,000 U	66,000원
EcoR I	TKR	1040B (A×5)	50,000 U	297,000원
EcoR I (고농도제품)	TKR	1040BH (AH×5)	50,000 U	297,000원

- 농도 : 15 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ Methyl화의 영향

인식부위에 인접한 염기서열에 따라 CG methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

■ Star 활성

고농도 glycerol, Mn²⁺ 존재, 저이온 농도조건 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다. 또 반응액에 spermine (0.2 mM 정도)를 첨가함으로써 활성은 20~30% 감소하지만 Star 활성의 출현을 30~50%로 억제할 수 있다.

EcoR V



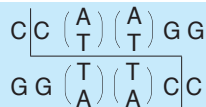
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
EcoR V	TKR	1042A	3,000 U	79,000원
EcoR V	TKR	1042AH (고농도제품)	3,000 U	79,000원
EcoR V	TKR	1042B (A×5)	15,000 U	355,000원
EcoR V	TKR	1042BH (AH×5) (고농도제품)	15,000 U	355,000원

- 농도 : 15 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받지 않는다.

EcoT14 I (Sty I)



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
EcoT14 I (Sty I)	TKR	1038A	3,000 U	83,000원
EcoT14 I (Sty I)	TKR	1038B (A×5)	15,000 U	373,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

EcoT22 I (Ava III)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
EcoT22 I (Ava III)	TKR	1125A	2,000 U	138,000원
EcoT22 I (Ava III)	TKR	1125B (A×5)	10,000 U	621,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

■ Star 활성

2-mercaptoethanol 존재, 저이온 농도 조건 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

F-a

제원호스

Fba I (Bcl I)



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Fba I (Bcl I)	TKR	1045A	500 U	66,000원
Fba I (Bcl I)	TKR	1045B (A×5)	2,500 U	297,000원

- 농도 : 12 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

dam methylase의 영향을 받는다. 따라서 일반적인 대장균 유래의 DNA는 절단하지 않는다.

■ Star 활성

고농도 glycerol, 알칼리 pH, 저이온 농도 조건 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Fok I



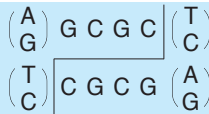
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Fok I	TKR	1046A	1,000 U	69,000원
Fok I	TKR	1046B (A×5)	5,000 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M+BSA
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받지 않는다.

Hae II



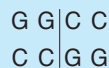
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hae II	TKR	1052A	100 U	141,000원
Hae II	TKR	1052B (A×5)	500 U	634,500원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받는다.

Hae III



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hae III	TKR	1051A	4,000 U	83,000원
Hae III (고농도제품)	TKR	1051AH	4,000 U	83,000원
Hae III	TKR	1051B	20,000 U	373,000원
Hae III (고농도제품)	TKR	1051BH (AH×5)	20,000 U	373,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받지 않는다.

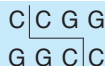
■ Star 활성

고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

F-a

제한효소

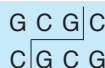
Hpa II (Hpa II, Msp I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hpa II (Hpa II, Msp I)	TKR	1053A	2,000 U	83,000원
Hpa II (Hpa II, Msp I) (고농도제품)	TKR	1053AH	2,000 U	83,000원
Hpa II (Hpa II, Msp I)	TKR	1053B (A×5)	10,000 U	373,000원
Hpa II (Hpa II, Msp I) (고농도제품)	TKR	1053BH (AH×5)	10,000 U	373,000원

- 농도 : 10 U/μl
(고농도: 50 U/μl)
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.

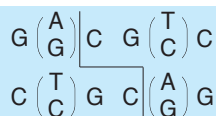
Hha I



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hha I	TKR	1056A	2,000 U	71,000원
Hha I	TKR	1056B (A×5)	10,000 U	319,000원

- 농도 : 10 U/μl
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

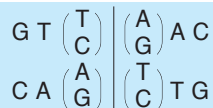
Hin1 I (Acy I, Bbi II)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hin1 I (Acy I, Bbi II)	TKR	1057A	300 U	116,000원
Hin1 I (Acy I, Bbi II)	TKR	1057B (A×5)	1,500 U	522,000원

- 농도 : 10 U/μl
- 첨부 · 활성측정 buffer : M+BSA
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.

Hinc II (Hind II)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hinc II (Hind II)	TKR	1059A	1,000 U	69,000원
Hinc II (Hind II) (고농도제품)	TKR	1059AH	1,000 U	69,000원
Hinc II (Hind II)	TKR	1059B (A×5)	5,000 U	310,000원
Hinc II (Hind II) (고농도제품)	TKR	1059BH (AH×5)	5,000 U	310,000원

- 농도 : 10 U/μl
(고농도: 50 U/μl)
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받지 않는다.

F-a

제한효소

Hinf I



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hinf I	TKR	1238A	6,000 U	131,000원
Hinf I (고농도제품)	TKR	1238AH	6,000 U	131,000원
Hinf I	TKR	1238B (A×5)	30,000 U	589,000원
Hinf I (고농도제품)	TKR	1238BH (AH×5)	30,000 U	589,000원

- 농도 : 10 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받지 않는다.

Hind III



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hind III	TKR	1060A	10,000 U	66,000원
Hind III (고농도제품)	TKR	1060AH	10,000 U	66,000원
Hind III	TKR	1060B (A×5)	50,000 U	297,000원
Hind III (고농도제품)	TKR	1060BH (AH×5)	50,000 U	297,000원

- 농도 : 15 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Star 활성** Mn²⁺ 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Hpa I



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Hpa I	TKR	1064A	500 U	69,000원
Hpa I	TKR	1064B (A×5)	2,500 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Kpn I



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Kpn I	TKR	1068A	5,000 U	79,000원
Kpn I (고농도제품)	TKR	1068AH	5,000 U	79,000원
Kpn I	TKR	1068B (A×5)	25,000 U	355,000원
Kpn I (고농도제품)	TKR	1068BH (AH×5)	25,000 U	355,000원

- 농도 : 10 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받지 않는다.
- **사용상의 주의** Star 활성이 나타나기 쉬운 효소이므로 필요 이상의 효소를 이용하여 장시간 반응시키는 것은 피한다.

Mbo I (Sau3A I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mbo I (Sau3A I)	TKR	1069A	1,000 U	163,000원
Mbo I (Sau3A I)	TKR	1069B (A×5)	5,000 U	733,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 37°C
- Methyl화의 영향 *dam* methylase의 영향은 받으나, CG methylase의 영향은 받지 않는다. 따라서 일반적인 대장균 유래의 DNA는 절단할 수 없다.
- License Notice [M1]

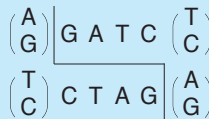
Mbo II



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mbo II	TKR	1145A	400 U	91,000원
Mbo II	TKR	1145B (A×5)	2,000 U	409,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37°C
- Ligation-Recutting Test 이 효소에 의해 생긴 돌출말단은 ligation 효율이 낮다. 따라서 평활 말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.
- Methyl화의 영향 인식서열과 인접한 염기서열에 따라서 *dam* methylase의 영향을 받으나, CG methylase의 영향은 받지 않는다.

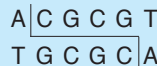
Mfl I (Xho II)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mfl I (Xho II)	TKR	1070A	500 U	116,000원
Mfl I (Xho II)	TKR	1070B (A×5)	2,500 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37°C
- Methyl화의 영향 *dam* methylase의 영향을 받는다. 따라서 일반적인 대장균 유래의 DNA는 절단할 수 없다.

Mlu I



Genome DNA Analysis

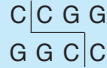


pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mlu I	TKR	1071A	1,000 U	69,000원
Mlu I (고농도제품)	TKR	1071AH	1,000 U	69,000원
Mlu I	TKR	1071B (A×5)	5,000 U	310,000원
Mlu I (고농도제품)	TKR	1071BH (AH×5)	5,000 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37°C
- Methyl화의 영향 CG methylase의 영향을 받는다.

Msp I (Hpa II, Hap II)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Msp I (Hpa II, Hap II)	TKR	1150A	3,000 U	138,000원
Msp I (Hpa II, Hap II) (고농도제품)	TKR	1150AH	3,000 U	138,000원
Msp I (Hpa II, Hap II)	TKR	1150B (A×5)	15,000 U	621,000원
Msp I (Hpa II, Hap II) (고농도제품)	TKR	1150BH (AH×5)	15,000 U	621,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : T+BSA
- 반응온도 : 37°C
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향은 받지 않는다.

F-a

제한효소

Mun I (Mfe I)

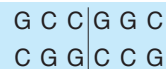


Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mun I (Mfe I)	TKR	1153A	150 U	138,000원
Mun I (Mfe I)	TKR	1153B (A×5)	750 U	621,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M+BSA
- 반응온도 : 37°C
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재, 저이온 농도조건 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Nae I



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Nae I	TKR	1155A	500 U	69,000원
Nae I	TKR	1155B (A×5)	2,500 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37°C
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.
- **사용상의 주의** pBR322에는 4 개의 절단서열이 있으나 position No. 1283의 절단부위는 절단되기 어렵다.

Nco I



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Nco I	TKR	1160A	500 U	105,000원
Nco I	TKR	1160B (A×5)	2,500 U	472,000원
Nco I (고농도제품)	TKR	1160BH	2,500 U	472,000원

- 농도 : 10 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- Star 활성 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.
- 첨부 · 활성측정 buffer : K+BSA
- 반응온도 : 37°C

Nde I



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Nde I	TKR	1161A	400 U	79,000원
Nde I	TKR	1161B (A×5)	2,000 U	355,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37°C
- Ligation-Recutting Test 이 효소에 의해 생긴 돌출말단은 일반적으로 형성되는 2염기 돌출말단에 비해 효율이 떨어진다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.
- 사용상의 주의 이 효소는 희석하면 불안정하므로 원액으로 사용할 것. 반응액에 Triton X-100을 최종농도 0.01%로 첨가하면 상대활성이 150% 정도 상승한다.

Nhe I

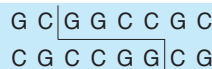


Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Nhe I	TKR	1241A	700 U	104,000원
Nhe I	TKR	1241B (A×5)	3,500 U	468,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37°C
- Methylation의 영향 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 CG methylase의 영향을 받는 경우도 있다.
- Star 활성 고농도 glycerol, 알칼리 pH, 저이온 농도조건에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Not I



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Not I	TKR	1166A	500 U	91,000원
Not I	TKR	1166B (A×5)	2,500 U	409,000원
Not I (고농도제품)	TKR	1166BH	2,500 U	409,000원

- 농도 : 10 U/ μ l (고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H+BSA+Triton X-100
- 반응온도 : 37°C
- Methylation의 영향 CG methylase의 영향을 받는다.

Nru I

T C G | C G A
A G C | G C T



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
<i>Nru</i> I	TKR	1168A	1,000 U	71,000원
<i>Nru</i> I	TKR	1168B (A×5)	5,000 U	319,000원

- 농도 : 10 U/ μ l

- 첨부 · 활성측정 buffer : *Nru* I Buffer + BSA

- 반응온도 : 37℃

- **Methyl화의 영향**

CG methylase의 영향을 받는다. 또, 인식부위에 이어지는 염기서열에 따라 dam methylase의 영향을 받는다.

Nsb I (Avi II, Mst I)

T G C | G C A
A C G | C G T



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
<i>Nsb</i> I (<i>Avi</i> II, <i>Mst</i> I)	TKR	1226A	200 U	98,000원
<i>Nsb</i> I (<i>Avi</i> II, <i>Mst</i> I)	TKR	1226B (A×5)	1,000 U	441,000원

- 농도 : 10 U/ μ l

- 첨부 · 활성측정 buffer : T+BSA

- 반응온도 : 37℃

- **Methyl화의 영향**

CG methylase의 영향을 받는다.

- **Star 활성**

Mn²⁺ 존재하에서 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

PmaC I

C A C | G T G
G T G | C A C

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
<i>PmaC</i> I	TKR	1177A	500 U	69,000원
<i>PmaC</i> I	TKR	1177B (A×5)	2,500 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l

- 첨부 · 활성측정 buffer : L

- 반응온도 : 37℃

- **Methyl화의 영향**

CG methylase의 영향을 받는다.

PshA I

G A C N N | N N G T C
C T G N N | N N C A G

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
<i>PshA</i> I	TKR	1074A	200 U	80,000원
<i>PshA</i> I	TKR	1074B (A×5)	1,000 U	360,000원

- 농도 : 10 U/ μ l

- 첨부 · 활성측정 buffer : K

- 반응온도 : 37℃

- **Methyl화의 영향**

인식부위에 인접한 염기서열에 따라 CG methylase의 영향을 받는다.

- **사용상의 주의**

본 효소는 희석하면 불안정해지므로 원액을 그대로 사용하여야 한다. 반응액에 BSA를 최종농도 0.01%로 첨가하면 상대활성이 37℃ 반응에서는 140%, 30℃ 반응에서는 220%정도 상승한다. 그러나, 반응액에 BSA를 첨가하지 않으면 30℃에서 180% 상승한다.

PshB I (Vsp I)



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
PshB I (Vsp I)	TKR	1109A	1,000 U	83,000원
PshB I (Vsp I)	TKR	1109B (A×5)	5,000 U	373,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

■ 첨부 · 활성측정 buffer : Psh B I Buffer

■ 반응온도 : 37℃

■ Star 활성

낮은 pH에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Psp1406 I (Acl I)



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Psp1406 I (Acl I)	TKR	1108A	200 U	138,000원
Psp1406 I (Acl I)	TKR	1108B (A×5)	1,000 U	621,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

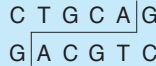
■ 첨부 · 활성측정buffer : T+BSA

■ 반응온도 : 37℃

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받는다.

Pst I



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pst I	TKR	1073A	10,000 U	79,000원
Pst I (고농도제품)	TKR	1073AH	10,000 U	79,000원
Pst I	TKR	1073B (A×5)	50,000 U	355,000원
Pst I (고농도제품)	TKR	1073BH (AH×5)	50,000 U	355,000원

■ 농도 : 15 U/ μ l

(고농도: 50 U/ μ l)

■ 첨부 · 활성측정 buffer : H

■ 반응온도 : 37℃

■ Star 활성

고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Pvu I



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pvu I	TKR	1242A	400 U	178,000원
Pvu I	TKR	1242B (A×5)	2,000 U	801,000원

■ 농도 : 10 U/ μ l

■ 첨부 · 활성측정 buffer : K+BSA

■ 반응온도 : 37℃

■ Ligation-Recutting Test

본 효소에 의해 생긴 돌출말단은 일반적인 2 염기 돌출말단 보다 ligation 효율이 떨어진다. 따라서 평활말단 ligation과 같은 반응 조건에서 반응할 필요가 있다.

■ Methyl화의 영향

CG methylase의 영향을 받으나, dam methylase의 영향을 받지 않는다.

F-a

제한효소

Pvu II

C A G | C T G
G T C | G A C



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pvu II	TKR	1243A	4,000 U	125,000원
Pvu II (고농도제품)	TKR	1243AH	4,000 U	125,000원
Pvu II	TKR	1243B (A×5)	20,000 U	702,000원
Pvu II (고농도제품)	TKR	1243BH (AH×5)	20,000 U	702,000원

- 농도 : 15 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Sac I

G A G C | T C
C | T C G A G



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sac I	TKR	1078A	2,000 U	71,000원
Sac I (고농도제품)	TKR	1078AH	2,000 U	71,000원
Sac I	TKR	1078B (A×5)	10,000 U	319,000원
Sac I (고농도제품)	TKR	1078BH (AH×5)	10,000 U	319,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : L
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받지 않는다.
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Sac II

C C G C | G G
G G | C G C C



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sac II	TKR	1079A	1,000 U	66,000원
Sac II	TKR	1079B (A×5)	5,000 U	297,000원

- 농도 : 15 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : T+BSA
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.
- **사용상의 주의** λ DNA에는 4 개의 절단부위가 존재하나 position No. 40386의 절단부위는 절단하기 어렵다.

Sal I

G | T C G A C
C A G C | T G



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sal I	TKR	1080A	3,000 U	79,000원
Sal I (고농도제품)	TKR	1080AH	3,000 U	79,000원
Sal I	TKR	1080B (A×5)	15,000 U	355,000원
Sal I (고농도제품)	TKR	1080BH (AH×5)	15,000 U	355,000원

- 농도 : 15 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Sau3A I (Mbo I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sau3A I (Mbo I)	TKR	1082A	200 U	69,000원
Sau3A I (Mbo I)	TKR	1082B (A×5)	1,000 U	310,000원
Sau3A I (Mbo I) (고농도제품)	TKR	1082BH	1,000 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

- **Methyl화의 영향** 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 CG methylase의 영향을 받는다. dam methylase의 영향은 받지 않는다.
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Sca I

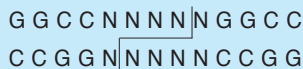


제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sca I	TKR	1084A	1,500 U	91,000원
Sca I	TKR	1084B (A×5)	7,500 U	409,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C

- **Star 활성** Mn²⁺ 존재, 알칼리 pH, 저이온 농도조건에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.
- **사용상의 주의** 본 효소는 희석하면 불안정해지므로 원액을 그대로 사용해야 한다. 반응액에 BSA를 최종농도 0.01%로 첨가하면, 37 $^{\circ}$ C 반응에서는 효과가 없으나 30 $^{\circ}$ C 반응에서는 상대활성을 120%, 25 $^{\circ}$ C에서는 240%정도 상승한다. 한편, 반응액에 BSA를 첨가하지 않으면 25 $^{\circ}$ C에서도 활성은 변하지 않는다.

Sfi I



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sfi I	TKR	1244A	1,000 U	259,000원
Sfi I	TKR	1244B (A×5)	5,000 U	1,165,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 50 $^{\circ}$ C

- **Star 활성** Mn²⁺ 존재 하에서 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Sma I



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sma I	TKR	1085A	2,000 U	69,000원
Sma I (고농도제품)	TKR	1085AH	2,000 U	69,000원
Sma I	TKR	1085B (A×5)	10,000 U	310,000원
Sma I (고농도제품)	TKR	1085BH (AH×5)	10,000 U	310,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- 첨부 · 활성측정 buffer : T+BSA
- 반응측정 : 30 $^{\circ}$ C

- **Methyl화의 영향** CG methylase의 영향을 받는다.
- **사용상의 주의** 37 $^{\circ}$ C 반응에서도 동등한 효소활성을 나타내나, 30 $^{\circ}$ C와 비교하면 반응 중의 효소 안정성이 다소 떨어진다.

Smi I (Swa I)

ATTT | AAAT
TAAA | TTTA



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Smi I (Swa I)	TKR	1111A	200U	156,000원
Smi I (Swa I)	TKR	1111B (A×5)	1,000U	702,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- Star 활성 glycerol이나 DMSO가 고농도로 존재하는 경우, pH가 알칼리성인 경우, Mn²⁺ 이온이 저농도로 첨가된 경우에는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 30℃

SnaB I

T A C | G T A
A T G | C A T



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
SnaB I	TKR	1245A	200 U	119,000원
SnaB I	TKR	1245B (A×5)	1,000 U	535,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- Methylation의 영향 CG methylase의 영향을 받는다.
- 첨부 · 활성측정 buffer : SnaB I Buffer + BSA
- 반응온도 : 37℃

Spe I

A | C T A G T
T G A T C | A



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Spe I	TKR	1086A	300 U	66,000원
Spe I	TKR	1086B (A×5)	1,500 U	297,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- Star 활성 저이온 농도조건에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37℃

Sph I

G C A T G | C
C | G T A C G



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sph I	TKR	1246A	600 U	178,000원
Sph I	TKR	1246B (A×5)	3,000 U	801,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- Methylation의 영향 CG methylase의 영향을 받지 않는다.
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37℃

Sse8387 I

C C T G C A | G G
G G | A C G T C C



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Sse8387 I	TKR	1183A	400 U	116,000원
Sse8387 I	TKR	1183B (A×5)	2,000 U	522,000원
Sse8387 I (고농도제품)	TKR	1083BH	2,000 U	522,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
(고농도: 50 U/ μ l)
- Star 활성 저이온 농도조건에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.
- 첨부 · 활성측정 buffer : M+BSA
- License Notice [M4]
- 반응온도 : 37℃

Ssp I

A A T | A T T
T T A | T A A



Genome DNA Analysis

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Ssp I	TKR	1185A	500 U	80,000원
Ssp I	TKR	1185B (A×5)	2,500 U	360,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : SspI Buffer
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Star 활성** 고농도 glycerol, 알칼리 pH, 저이온 농도조건 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어지는 경우가 있다.

Stu I

A G G | C C T
T C C | G G A



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Stu I	TKR	1088A	500 U	66,000원
Stu I	TKR	1088B (A×5)	2,500 U	297,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : M
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 *dcm* methylase의 영향을 받는 경우가 있다.

Taq I (TthHB8 I)

T | C G A
A G C | T

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Taq I (TthHB8 I)	TKR	1189A	2,000 U	83,000원
Taq I (TthHB8 I)	TKR	1189B (A×5)	10,000 U	373,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : Taq I Buffer + BSA
- 반응온도 : 65 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** 인식부위에 인접한 염기서열에 따라서는 *dcm* methylase의 영향을 받으나, CG methylase의 영향은 받지 않는다.
- **Star 활성** 고농도 glycerol, 알칼리 pH, 저이온 농도조건에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Tth111 I

G A C N | N N G T C
C T G N N | N C A G

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Tth111 I	TKR	1090A	500 U	327,000원
Tth111 I	TKR	1090B (A×5)	2,500 U	1,471,000원

- 농도 : 12 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 65 $^{\circ}$ C
- **Ligation-Recutting Test** 본 효소에 의해 생긴 돌출말단은 ligation 효율이 낮다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.
- **Star 활성** Mn²⁺ 존재, 알칼리 pH 조건에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Van91 I (Pfl M I)

C C A N N N N | N T G G
G G T N | N N N N A C C

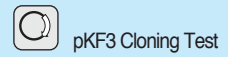
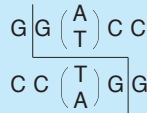
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Van91 I (Pfl M I)	TKR	1193A	300 U	138,000원
Van91 I (Pfl M I)	TKR	1193B (A×5)	1,500 U	621,000원

- 농도 : 10 U/ μ l
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 37 $^{\circ}$ C
- **Methyl화의 영향** 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 *dcm* methylase의 영향을 받는 경우가 있다.
- **Star 활성** 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

F-a

제한효소

VpaK11B I (Ava II)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
VpaK11B I (Ava II)	TKR	1196A	300 U	83,000원
VpaK11B I (Ava II)	TKR	1196B (A×5)	1,500 U	373,000원

- 농도 : 10 U/μl
- 첨부 · 활성측정 buffer : VpaK11B I Buffer
- 반응온도 : 30℃
- **Methyl화의 영향** : 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 *dcm* methylase, CG methylase의 영향을 받는 경우가 있다.
- **Star 활성** : 고농도 glycerol, 저이온 농도, 알칼리 pH 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Xba I



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Xba I	TKR	1093A	3,000 U	79,000원
Xba I (고농도제품)	TKR	1093AH	3,000 U	79,000원
Xba I	TKR	1093B (A×5)	15,000 U	355,000원
Xba I (고농도제품)	TKR	1093BH (AH×5)	15,000 U	355,000원

- 농도 : 15 U/μl (고농도: 50 U/μl)
- 첨부 · 활성측정 buffer : M + BSA
- 반응온도 : 37℃
- **Methyl화의 영향** : 인식부위에 인접한 염기서열에 따라 *dcm* methylase의 영향을 받는 경우가 있다.
- **Star 활성** : 고농도 glycerol 존재 하에서는 인식서열의 특이성이 떨어질 수 있다.

Xho I



Genome DNA Analysis



pKF3 Cloning Test

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Xho I	TKR	1094A	5,000 U	79,000원
Xho I (고농도제품)	TKR	1094AH	5,000 U	79,000원
Xho I	TKR	1094B (A×5)	25,000 U	355,000원
Xho I (고농도제품)	TKR	1094BH (AH×5)	25,000 U	355,000원

- 농도 : 10 U/μl (고농도: 50 U/μl)
- 첨부 · 활성측정 buffer : H
- 반응온도 : 37℃
- **Ligation-Recutting Test** : 본 효소에 의해 생긴 돌출말단은 일반적으로 형성되는 4염기 돌출말단에 비해 효율이 떨어진다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다.
- **Methyl화의 영향** : CG methylase의 영향을 받는다.

Xsp I (Bfa I, Mae I)



제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Xsp I (Bfa I, Mae I)	TKR	1095A	500 U	98,000원
Xsp I (Bfa I, Mae I)	TKR	1095B (A×5)	2,500 U	441,000원

- 농도 : 10 U/μl
- 첨부 · 활성측정 buffer : K
- 반응온도 : 37℃
- **Ligation-Recutting Test** : 본 효소에 의해 생긴 돌출말단은 일반적으로 형성되는 4 염기 돌출말단에 비해 효율이 떨어진다. 따라서 평활말단의 ligation 반응조건에서 반응시킬 필요가 있다. 이 효소는 연세대학교 생명공학연구소 김영민 교수팀이 개발한 것입니다.

F-a

제한효소

mRNA Interferase

단일가닥 RNA를 서열 특이적으로 절단하는 효소

mRNA Interferase® - MazF

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
mRNA Interferase - MazF	TKR	2415A	1,000 U	538,000원

■ 내용

mRNA Interferase-MazF (20 U/ μ l)	1,000 U
5×MazF buffer	1 μ l

■ 보존

- 20℃

■ 5×MazF buffer 조성

200 mM	Sodium phosphate (pH7.5)
0.05%	Tween 20

■ 제품설명

MazF는 *E. coli*의 독소 항독소 모듈의 독소 단백질로, 단일가닥 RNA중의 ACA 서열을 인식해 특이적으로 절단하는 endoribonuclease 활성을 가지고 있다. 본 제품은 *E. coli* chaperone 단백질인 trigger factor와 *E. coli* MazF의 융합 단백질 형태로 제공되고 있다.

■ 특징

1. 본 효소는 단일가닥 RNA중의 ACA 배열의 5' side를 특이적으로 절단하는 endoribonuclease 이다.
2. 본 효소는 이중가닥 RNA, 이중가닥 DNA 및 단일가닥 DNA는 절단하지 않는다.
3. 본 효소를 이용해 단일가닥 RNA를 서열 특이적으로 절단할 수 있다.

■ 용도

단일가닥 RNA의 서열 특이적 절단

■ 주의 사항

1. 본 효소는 단일가닥 RNA 중의 ACA 서열의 첫번째 A의 5' side를 특이적으로 절단하는 효소이지만, 첫번째 A의 3' side에서도 절단하는 경우가 보고되고 있다. 또, 주변 서열에 따라서는 AC 서열의 5' side에서 절단하는 경우도 보고되고 있다. ACA 배열의 5' A가 5' side에서 5 base 이내에 있으면 절단되지 않는 경우가 있다.
2. 본 효소는 단일가닥 RNA 중 NACA 서열의 ACA 서열의 5' side를 특이적으로 절단하지만, N은 RNA일 필요가 있는 한편, 주변 서열은 반드시 RNA일 필요는 없다는 보고가 있다.
3. 본 효소는 이중가닥 RNA는 절단하지 않기 때문에, RNA의 고차 구조의 영향 등에 의해, RNA 중의 모든 ACA 서열을 절단하지 않을 수 있다.
4. 본 효소에 의한 절단은 3', 3' - cyclic phosphate 및 5' - OH로 되므로, 그대로 RNA ligase로 ligation 할 수 없다.
5. 동결 용해를 25회 반복한 후에도 동등한 활성을 유지하고 있었다.

■ 사용상의 주의

SPP 시스템은 New Jersey 의과치과대학과 독점계약을 체결하여 다카라바이오(주)에서 제조 및 판매하고 있습니다. 본 제품은 연구 목적으로만 사용 허가를 받았습니다. 본 제품 혹은 본 제품을 이용해 제조한 것을 상업적인 목적으로 사용할 경우에는 별도로 상업 이용계약을 체결해야 합니다. 또한, 본 제품의 구성 부분 혹은 그 유도체 및 이것들을 이용하여 제조한 것을 제 3자에게 양도 (무료 배포, 판매)할 수 없습니다.

제품 구입 시에는 첨부한 라이선스 동의서에 필요한 사항을 기입하고 주문 시에 당사의 대리점에 제출해 주십시오. 본 동의서가 첨부되지 않은 경우에는 제품을 출하할 수 없으므로 양해하시기 바랍니다. 라이선스에 관한 문의는 당사에 직접 문의하시기 바랍니다.

■ License Notice : [L13b, L20]

F-b

mRNA Interferase

수식효소

양도 일람

F-C

수식효소

수식효소		효도	In vitro Labeling							1st Stand cDNA	DNA Sequencing	Ligation				Mapping				Muta- genesis		cDNA Synthesis		In vitro Transcription	Tailing	Duplex Shortening	Blunting Ends	RNA Structure Probing	cDNA Cloning	Digestion of Nucleic Acids															
			DNA			RNA						DNA		RNA		Structural	Transcript	Footprint	Restriction	Oligomer	Misrepair	1st Strand	2nd Strand																						
			3'	5'	Internal	3'	5'	Internal	Single - stranded			Cohesive - ended ds	Blunt - ended ds	Single - stranded																															
Ligases	DNA	T4 DNA Ligase, cloned																																											
	RNA	E. coli DNA Ligase, cloned																																											
Ligases	RNA																																												
T4 RNA Ligase		○											○																																
Polynucleotide Kinases																																													
Alkaline Phosphatases																																													
Polymerases	DNA																																												
Polymerases	RNA																																												
Nucleases	DNA-RNA																																												
	DNA																																												
RNA																																													
DNA Topoisomerase I																																													
Ribonuclease Inhibitor																																													
Methylases																																													

순도 일람

각 수식효소의 순도를 아래표에 나타내었다. 각 효소와 아래표에 기재된 각 template을 표시된 조건에서 반응하여도 DNA (RNA) 전기영동 패턴에 변화가 없으며 혼합물의 활성을 확인하였다.

	Endo-, Exo-Nuclease 활성				Endonuclease, Nicking 활성				RNase 활성				기타
	효소량	template (1 μ g)	조건	기타	효소량	template (1 μ g)	조건	기타	효소량	template (1 μ g)	조건	기타	
T4 DNA Ligase	2,000 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		2,000 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		2,000 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		
<i>E. coli</i> DNA Ligase	360 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		360 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		360 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		
T4 RNA Ligase	100 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간						100 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		*1
T4 Polynucleotide Kinase	10 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간						5 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		
Alkaline Phosphatase (<i>E. coli</i> C75)	1 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간						1 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		
Alkaline Phosphatase (shrimp)	5 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 1 시간						5 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		
Alkaline Phosphatase (Calf Intestine)	30 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		30 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		18 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		
DNA Polymerase I (<i>E. coli</i>)					10 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간						
Klenow Fragment (Large Fragment <i>E. coli</i> DNA Polymerase I)					10 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간						
T4 DNA Polymerase					2 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 24 시간						
PrimeScript Reverse Transcriptase	200 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 1 시간		200 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		200 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		
Reverse Transcriptase (M-MLV)	200 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 1 시간		200 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		200 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		
Terminal Deoxynucleotidyl Transferase	15 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		15 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		15 U	2 μ g 5S rRNA	37 $^{\circ}$ C 5 시간		
SP6 RNA Polymerase	500 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		500 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 4 시간		500 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		
T7 RNA Polymerase	250 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		250 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 4 시간		250 U	2 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 5 시간		
Poly(A) Polymerase									2 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		
S1 Nuclease	10 U	pBR322 DNA- <i>Pvu</i> II 분해물	37 $^{\circ}$ C 10 분간										
Mung Bean Nuclease	30 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 10 분간										
Exonuclease I	25 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		25 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간	*2	25 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 16 시간		
Exonuclease III	50 U	pBR322 DNA- <i>Pst</i> I 분해물	37 $^{\circ}$ C 30 분간		50 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간						
Micrococcal Nuclease				*3									*3
Recombinant DNase I (RNase-free)									10 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C pH7.5 4 시간		
Ribonuclease H (RNase H)	50 U	λ DNA- <i>Hinc</i> II 분해물	37 $^{\circ}$ C 16 시간		50 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		50 U	1 μ g 16S 또는 23S rRNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간		
DNA Topoisomerase I								*4					
Ribonuclease Inhibitor	300 U	λ DNA- <i>Hind</i> III 분해물	37 $^{\circ}$ C 1 시간		300 U	closed circular (RF I) pBR322 DNA	37 $^{\circ}$ C 1 시간						

*1: 20 U 효소와 6 μ g의 λ DNA-*Hind* III 분해물 또는 6 μ g의 λ DNA-*Pst* I 분해물을 37 $^{\circ}$ C, 24 시간 반응 시켜도 각 DNA는 T4 DNA ligase에 의해 90% 이상 ligation 되어, 그 중 100%가 각각 *Hind* III 또는 *Pst* I로 재절단 된다.

*2: 25 U 효소와 1 μ g의 single-strand M13mp18 DNA를 37 $^{\circ}$ C, 16 시간 반응 시켜도 DNA 전기영동 패턴에 변화가 없다.

*3: 50 U 효소와 1 μ g의 λ DNA를 제한효소 반응액 (H buffer)에서 37 $^{\circ}$ C, 10 분간 반응 시켜도 DNA 전기영동패턴에 변화가 없다. SDS 전기영동에서는 95% 이상 순도를 보여준다.

*4: 24 U 효소와 0.5 μ g closed circular (RF I) pBR322 DNA를 37 $^{\circ}$ C, 24 시간 반응하여도 EtBr 존재 하의 DNA 전기영동 패턴에 변화가 없다.

수식효소/Ligases

■ T4 DNA Ligase와 *E. coli* DNA Ligase의 특성 비교

	T4 DNA Ligase	<i>E. coli</i> DNA Ligase
분자량	약 62,000	약 77,000
최적 pH	7.2~7.8	7.5~8.0
조효소 (coenzyme)	ATP	NAD
환원제	필요	불필요
평활말단의 연결	가능	불가능 (+PEG로 가능)
돌출말단의 연결	가능	가능

Cloned

※ 반응용 버퍼 첨부

T4 DNA Ligase

F-c

수식효소

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
T4 DNA Ligase	TKR	2011A	25,000 U	75,000원
T4 DNA Ligase	TKR	2011B (A×5)	125,000 U	337,000원

■ 농도 350 U/*μ*l

■ 형태

10 mM	Tris-HCl (pH7.5)
50 mM	KCl
10 mM	2-Mercaptoethanol
0.1 mM	EDTA
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

660 mM	Tris-HCl (pH7.6)
66 mM	MgCl ₂
100 mM	DTT
1 mM	ATP

■ 기원

Escherichia coli carrying the plasmid that enables high expression of T4 DNA ligase gene

■ 제품설명

본 효소는 인접한 DNA 가닥의 5'-P 말단과 3'-OH 말단을 phosphodiester 결합으로 연결하는 효소이다. 보조인자로 ATP를 요구하고, 반응 중간물로 enzyme-ATP complex가 만들어지며 이것이 DNA에 작용한다. 본 효소는 돌출말단과 평활말단을 연결한다. 또 DNA의 5'-P 말단과 RNA의 3'-OH 말단, RNA의 5'-P 말단과 DNA의 3'-OH 말단의 연결활성 그리고 극히 낮은 RNA 말단 간의 연결활성도 갖고 있다.

■ 용도

- Insert DNA와 vector DNA의 연결
- DNA 단편과 linker 또는 adaptor DNA와의 연결

■ 사용상의 주의

Ligation 반응은 말단 염기서열의 종류에 따라 반응속도가 다르다. 일반적으로 다음과 같은 경향이 있다.

돌출말단

Hind III > *Pst* I > *Eco*RI > *Bam*HI > *Sal*I
(*Hind* III site는 *Sal*I site 보다 10~40 배 빠르게 ligation한다)

평활말단

Hae III > *Alu*I > *Hinc* II > *Sma*I
(*Hae* III site는 *Sma*I site 보다 5~10 배 빠르게 ligation한다)
*Eco*RV > *Sca*I > *Pro*II > *Nru*I

■ 관련제품

DNA Ligation Kit Ver.1, Ver.2,1	(Code 6021, 6022)
DNA Ligation Kit (Mighty Mix)	(Code 6023)
TaKaRa DNA Ligation Kit LONG	(Code 6024)

E. coli DNA Ligase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
<i>E. coli</i> DNA Ligase	TKR	2160A	1,000 U	89,000원
<i>E. coli</i> DNA Ligase	TKR	2160B (A×5)	5,000 U	400,000원

■ **농도** 50~100 U/ μ l

■ **형상**

10 mM	Potassium Phosphate (pH7.5)
50 mM	KCl
1 mM	DTT
1 mM	EDTA
50%	Glycerol

■ **보존** -20℃

■ **기원**

Escherichia coli UT 481 carrying the plasmid encoding the ligase

■ **제품설명**

본 효소는 인접한 DNA 가닥의 5'-P 말단과 3'-OH 말단을 phosphodiester 결합으로 연결하는 효소이다. 보조인자로서 NAD를 요구한다. 본 효소는 돌출말단끼리의 연결반응만 가능하나, PEG와 높은농도의 1가 양이온 존재 하에서는 평활말단을 연결하는 반응도 가능하다. DNA의 5'-P 말단과 RNA의 3'-OH 말단 그리고 RNA끼리의 연결은 불가능하다.

■ **용도**

Okayama-Berg법과 Gubler-Hoffman법에 의한 cDNA 합성시의 second strand의 합성 (Okayama-Berg법에서의 사용량은 약 50 U, Gubler-Hoffman법에서의 사용량은 약 1.5 U 이다.)

■ **사용상의 주의**

본 효소는 대장균의 과잉생산 재조합주로부터 정제하여 불순물을 거의 포함하지 않는 아주 높은 순도의 제품이다. 따라서 고농도이지만 대량으로 사용하여도 전혀 문제가 없다.

T4 RNA Ligase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
T4 RNA Ligase	TKR	2050A	1,000 U	180,000원
T4 RNA Ligase	TKR	2050B (A×5)	5,000 U	810,000원

■ 농도 10~50 U/ μ l

■ 형상

20 mM	Tris-HCl (pH7.5)
50 mM	NaCl
5 mM	2-Mercaptoethanol
0.1 mM	EDTA
50%	Glycerol

■ 보존 -20°C

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

500 mM	Tris-HCl (pH7.5)
100 mM	MgCl ₂
100 mM	DTT
10 mM	ATP
0.1%	BSA [별첨]*

*BSA가 침전할 우려가 있으므로 동결·융해는 가능한 한 피해 주십시오.

■ 기원

Escherichia coli B infected with T4 am N82

■ 제품설명

본 효소는 ATP를 AMP와 PPI로 분해하여 그 에너지로 5'-P 말단의 oligonucleotide와 3'-OH 말단의 oligonucleotide를 결합시키는 효소이다.

최소 template은 NpNpNOH (3'-OH oligomer, 수용체), pNp (5', 3' DP monomer 공여체)이다. ligation 효율은 Acceptor, 공여체 각각의 염기에 영향을 받으며, 일반적으로 수용체에는 purine을, 공여체는 pyrimidine을 포함하는 것이 효율이 좋다. DNA는 RNA보다 상당히 효율이 떨어지고, 구조적으로 3' 말단에 가까운 P 말단을 갖는 RNA도 효율이 좋지 않으며, 3'-uridine oligomer 또한 수용체로서 부적당하다. 3' 수용체의 경우는 BAP처리에 의하여 효율을 높일 수 있다.

5', 3' DP monomer 공여체로서는 C > U > A > G의 순으로 높은 효율을 가지고 있다.

■ 용도

- ssRNA와 ssDNA의 3'-OH 말단의 표식
- ssDNA oligo RNA, ssDNA의 합성
- Full-length cDNA 합성

■ 순도

- 100 U의 본 효소와 1 μ g의 λ DNA-*Hind* III 분해물을 37°C, 24 시간 반응해도 DNA의 전기영동 패턴에 변화가 없다.
- 100 U의 본 효소와 1 μ g의 16S와 23S rRNA를 37°C, 24 시간 반응하여도 RNA의 전기영동 패턴에 변화가 없다.
- 20 U의 본 효소와 6 μ g의 λ DNA-*Hind* III 분해물 또는 6 μ g의 λ DNA-*Pst* I 분해물을 37°C, 24 시간 반응하여도 각 DNA는 T4 DNA ligase에 의해 90% 이상 연결되고, 그 중 100%가 각각 *Hind* III 또는 *Pst* I에 의해 재절단된다.

■ 사용상의 주의

- 4°C 이하 보존에서 약 1 년간 안정하다.
- 분자간 ligation의 최적반응 온도는 5~15°C로 그 이상 높아지면 억제된다.
- PEG 공존 하에서 반응은 촉진되나, 반응특이성에는 변화가 없다.
- 연결반응의 효율을 높이기 위해서는 효소농도는 높고 ATP 농도는 template 농도를 고려하여 가능한 낮게 하는 것이 좋다.
- 첨부한 10×buffer에 0.1% BSA를 직접 첨가하면 다량의 백색침전이 생기기 로 반응액을 조절할 때는 다음 순서로 시약을 첨가한다.
dH₂O → 10×buffer → 0.1% BSA → template RNA 또는 DNA

■ 참고

Yeast tRNA^{phe}를 template로 하였을 때, 상기 반응액 중에 50 U의 본 효소를 5°C, 16 시간 처리하면 80% 이상 tRNA^{phe}의 3' 말단이 표식된다.

F-c

수지표시

수식효소/Polynucleotide Kinases

Cloned

※ 반응용 버퍼 첨부 (인산전이반응)

T4 Polynucleotide Kinase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
T4 Polynucleotide Kinase	TKR	2021A	1,000 U	80,000원
T4 Polynucleotide Kinase	TKR	2021B (A×5)	5,000 U	360,000원

■ 농도 10 U/ μ l

■ 형태

50 mM	Tris-HCl (pH7.5)
50 mM	KCl
1 mM	DTT
0.1 μ M	ATP
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

500 mM	Tris-HCl (pH8.0)
100 mM	MgCl ₂
50 mM	DTT

표식하지 않고 인산화 반응을 실시할 때는 반응액에 최종농도 1 mM이 되도록 ATP를 첨가해 주십시오.

단, 본 효소에 ATP는 첨부되어 있지 않습니다.

■ 기원

Escherichia coli carrying the high expression system of T4 *pseT* gene

■ 제품설명

본 효소는 DNA 또는 RNA의 5' 말단에 ATP의 γ 위치의 인산기를 첨가하는 효소이다. ATP 존재 하에서는 5' -OH 말단의 인산화 반응 (인산화 전이반응)이 일어나지만, 5' -P 말단이 template인 경우 ADP가 존재하면 역반응이 일어나 5' 말단에 탈인산화 반응이 일어난다. 이때, 표식한 ATP를 첨가하면 인산전이 반응도 동시에 일어나 5' 말단이 표식된 것과 교환이 일어난다 (교환반응).

■ 용도

- DNA와 RNA의 5' 말단의 표식
- 합성 DNA linker의 5' 말단의 인산화

■ 관련제품

MEGALABEL (Code 6070)

F-c

수식효소

수식효소/Alkaline Phosphatases

■ Alkaline Phosphatase의 특성 비교

Alkaline phosphatase에는 대장균 유래의 효소 (BAP)와 송아지 소장 유래의 효소 (Calf Intestinal Alkaline Phosphatase, CIAP)가 있으므로 각각의 특성을 비교하였다.

표 1 BAP와 CIAP의 특성 비교

	BAP	CIAP
분자량	약 80,000	약 100,000
Subunit	2	2
금속이온	Zn ²⁺	Zn ²⁺
당쇄	없음	있음
최적 pH	8,0	9,8
(측정조건)	(1 M Tris-HCl) (1 mM pNPP)	(1 M diethanolamine) (15 mM pNPP)
Tris 농도의 영향 ¹	1 M 100% 0,1 M 35% 0,01 M 21%	100% 25% 14%
온도의 영향 ²	25℃ 100% 37℃ 140% 50℃ 222% 56℃ 282% 65℃ 412%	100% 135% 139% 182% 129% ³
열안정성 (65℃)	Active (활성잔존)	30 분으로 실패

pNPP : p-nitrophenyl phosphate

¹ 각각의 효소활성 측정조건 (각 제품의 제품 설명란 참조)을 100%로 하여 Tris 농도의 영향을 측정하였다.

² 첨부 버퍼 조건하, 10분간 반응시의 활성의 영향을 검토하였다.

³ 반응시간 중에 실패

F-c

수식효소

E. coli C75

※ 반응용 버퍼 첨부

Alkaline Phosphatase (BAP)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Alkaline Phosphatase (BAP)	TKR	2120A	50 U	75,000원
Alkaline Phosphatase (BAP)	TKR	2120B (A×5)	250 U	337,000원

■ 농도 0,3~0,6 U/μl

■ 형상

50 mM	Tris-HCl (pH8,0)
100 mM	KCl
1 mM	MgSO ₄
50%	Glycerol

■ 보존 - 20° C

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

500 mM	Tris-HCl (pH9,0)
10 mM	MgCl ₂

■ 기원

Escherichia coli 75

■ 제품설명

본 효소는 모든 인산 monoester를 가수분해 하지만, 인산 diester와 인산 triester는 분해하지 않는다. ATP 등 pyrophosphate 결합은 분해한다.

■ 용도

• 주로 DNA의 5' 말단 표식을 하기 위한 전처리 또는 self-ligation을 막기 위한 vector DNA 단편의 탈인산화 처리

■ 사용상의 주의

매우 안정적인 효소로 100℃ 가열에 일시적으로 실패하지만 실온에 놓으면 활성이 되살아나므로 반응 종료 후 적어도 2회 phenol 처리하는 것이 필요하다.

Alkaline Phosphatase (Calf intestine) (CIAP)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Alkaline Phosphatase (Calf intestine)	TKR	2250A	1,000 U	83,000원
Alkaline Phosphatase (Calf intestine)	TKR	2250B (A×5)	5,000 U	373,000원

■ 농도 10~30 U/ μ l

■ 형상

10 mM	Tris-HCl (pH8,0)
50 mM	KCl
1 mM	MgCl ₂
0,1 mM	ZnCl ₂
50%	Glycerol

■ 보존 -20° C

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

500 mM	Tris-HCl (pH9,0)
10 mM	MgCl ₂

■ 기원

Calf intestine

■ 제품설명

본 효소는 대장균 유래의 효소와 같이 거의 모든 인산 monoester를 분해하지만, 인산 diester와 인산 triester는 분해하지 않는다. ATP 등의 pyrophosphate 결합의 속도는 느리다.

■ 용도

DNA 말단의 인산기를 선택적으로 절단

■ 사용상의 주의

본 효소는 보존 조건에서는 매우 안정하지만 chelate제 존재하에서 65°c, 30 분의 열처리로 99% 이상의 활성이 비가역적으로 실활한다. 단, 사용조건에 따라서는 이것만으로 불충분한 경우도 있으므로 완전한 실활처리는 phenol 정제하는 것이 바람직하다.

F-c

수식호스

Alkaline Phosphatase (Shrimp) (SAP)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Alkaline Phosphatase (Shrimp)	TKR	2660A	300 U	117,000원
Alkaline Phosphatase (Shrimp)	TKR	2660B (A×5)	1,500 U	526,000원

■ 농도 1 U/ μ l

■ 형상

25 mM	Tris-HCl (pH7,6, 4°c)
1 mM	MgCl ₂
0,1 mM	ZnCl ₂
50%	Glycerol

■ 보존 -20° C

■ 첨부 Buffer 조성(10×)

500 mM	Tris-HCl (pH9,0, 37°c)
50 mM	MgCl ₂

■ 기원

Shrimp (*Pandalus borealis*)

■ 제품설명

본 효소는 대장균 유래의 효소와 같이 거의 모든 인산 monoester를 분해하지만, 인산 diester와 인산 triester는 분해하지 않는다. 또, 대장균 유래의 다른 효소와 동일하게 65°c, 15 분간 열처리하면 완전히 실활 한다.

■ 용도

DNA 5' 말단의 탈인산화 처리

수식효소/DNA Polymerase

■ DNA Polymerase 특성비교

	DNA Polymerase I (<i>E. coli</i>)	Klenow Fragment	T4 DNA Polymerase
활성			
DNA Polymerase 5' → 3'	+	+	+
Exonuclease			
dsDNA 5' → 3'	+	-	-
ssDNA 3' → 5'	+	+	+++
dsDNA 3' → 5'	± ¹⁾	± ¹⁾	+
RNase H	+	-	-
template			
Single-Stranded DNA	+	+	+
Single-Stranded RNA	± ²⁾	± ²⁾	-
분자량	109,000	68,000	114,000
최적 pH ³⁾	7.4	7.4	8.8
금속 이온	Mg ²⁺	Mg ²⁺	Mg ²⁺
Processivity ⁴⁾	10~50 base	10~50 base	n.i.
Elongation 속도	20~30 base/s	20~30 base/s	100 base/s
ddNTP의 template화	낮음 ⁵⁾	낮음	n.i.
Vortex 교반의 영향	불안정	불안정	불안정

(n, i, = no information)

주1) ssDNA 3' → 5' exonuclease에 의한 과잉 반응이 있어 분해능이 낮다.

주2) 역전사효소의 활성측정 (poly r(A)n)에 대한 활성이 있지만 천연 RNA에 대한 활성은 낮다.

주3) Polymerase의 적정 pH와 공존하는 exonuclease의 적정 pH는 일반적인 효소의 pH와 다르다.

주4) 효소가 template에 인접한 (1 attack) 곳까지 합성하는 길이.

주5) ddNTP의 혼입이 낮은 경우는 저해정도가 낮다는 것을 의미한다.

T4 DNA Polymerase의 경우 exonuclease가 강해서 혼입정도를 측정하기 어렵다.

Cloned

※ 반응용 버퍼 첨부

DNA Polymerase I (*E. coli*)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
DNA Polymerase I (<i>E. coli</i>)	TKR	2130A	500 U	71,000원
DNA Polymerase I (<i>E. coli</i>)	TKR	2130B (A×5)	2,500 U	319,000원

■ 농도 3~6 U/ μ l

■ 형상

50 mM	Potassium Phosphate (pH6.5)
10 mM	2-Mercaptoethanol
50%	Glycerol

■ 보존 -20° C

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

500 mM	Tris-HCl (pH7.8)
100 mM	MgCl ₂
1 mM	DTT
250 μ g/ml	BSA*

*BSA가 침전될 우려가 있으므로 동결·융해는 가능한 피한다.

■ 기원

Escherichia coli carrying the plasmid which encodes the gene of Pol I

■ 제품설명

본 효소는 template, primer (DNA, RNA 모두 가능) 존재 하에서 dNTP를 기질로 하여, template에 상보적인 DNA를 5' → 3' 방향으로 합성한다. 이중가닥 특이적 5' → 3' exonuclease 활성 및 단일가닥 특이적 3' → 5' exonuclease 활성도 가진다.

■ 용도

- DNase I (Code 2210)과의 병용에 의한 nick translation
- Okayama-Berg법에 있어서 second strand의 합성반응 (DNA polymerase I 0.3 μ g은 약 2.5 U에 상당한다).

■ 사용상의 주의

- 상기 보존조건에서 6 개월 이상 안정하고 희석에 의한 활성저하는 일어나지 않으나, 심하게 교반하면 실활할 수도 있다.
- Endonuclease를 포함하고 있지 않으므로 단독으로는 거의 nick translation 활성은 나타내지 않는다.
- DNA와 친화성이 강하기 때문에 과량을 사용하면 aggregation이 일어나 반응이 충분히 진행되지 않는 경우가 있다.

T4 DNA Polymerase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
T4 DNA Polymerase	TKR	2040A	100 U	80,000원
T4 DNA Polymerase	TKR	2040B (A×5)	500 U	360,000원

■ 농도 2~5 U/μl

■ 형상

200 mM	Potassium Phosphate (pH6.5)
10 mM	2-Mercaptoethanol
50%	Glycerol

■ 보존 -20°C

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

330 mM	Tris-acetate (pH7.9)
660 mM	CH ₃ COOK
100 mM	(CH ₃ COO) ₂ Mg
5 mM	DTT
0.1%	BSA (별첨)

■ 기원

Escherichia coli carrying the plasmid containing phage T4 DNA polymerase gene

■ 제품설명

본 효소는 template DNA와 primer 존재하에서 template에 상보적인 nucleotide를 primer의 3' - OH 말단에 순차적으로 부가하는 반응을 촉매한다.

본 효소는 Klenow Fragment에 비하여 약 100~1,000 배 강한 단일가닥 DNA 특이적 3' → 5' exonuclease 활성을 갖고 있으나, 5' → 3' exonuclease 활성은 갖고 있지 않다. 3' → 5' exonuclease 활성은 polymerase 활성의 약 3 배 turnover number를 갖고 있어 통상의 조건에서 이중가닥 DNA 말단의 분해도 가능하다. dNTP가 존재하는 통상의 조건에서는 polymerase 활성을 나타내나, 말단 합성 종료 후, dNTP가 고갈된 시점에서 DNA의 분해반응으로 바뀐다.

3' → 5' Exonuclease 활성에 의한 단일가닥 DNA의 분해활성은 사슬의 길이에 의존하여, 길이가 10 배로 되면 (예 : 300 → 3,000 bp) 분해속도는 1/100이 된다. *E. coli* DNA polymerase I과 달리 nick으로 부터의 합성은 불가능하지만 T4 gene 32 산물을 첨가하면 가능하다 (저이온 농도). Polymerase 활성에 비하여 exonuclease 활성은 쉽게 온도의 영향을 받으므로 합성반응은 저온에서 장시간 하는 것이 좋다. 본 효소는 DNA 2 차 구조의 영향을 받기 쉽고 T4 gene 32 산물의 도움없이 2 차 구조를 넘어서 계속 합성하기 어렵다. 반대로 두가닥 부분까지 합성이 진행되면 그 부분에서 반응이 정확히 정지하는 것으로 알려져 있다.

■ 활성의 정의

열변성 송아지 흉선 DNA를 template /primer 로써 사용하여 37°C, pH8.8 조건에서 30 분 동안 모든 10 nmoi의 nucleotide를 산불용성 첨전물의 합성 template로 사용하는 것을 효소활성 1 U으로 한다.

■ 용도

- 강력한 3' → 5' exonuclease 활성을 이용한 replacement synthesis에 의한 DNA 단편의 3' 말단의 표식
- DNA 단편의 말단의 평활화

■ 사용상의 주의

- pH7.5 와 pH9.7에서는 50%의 활성을 나타낸다.
- Mg²⁺을 요구하며, 최대활성을 나타내기 위해서는 SH 환원제를 요구한다.
- 반응계 전체의 이온농도가 100 mM를 넘으면 저해된다.
- template DNA의 고차구조의 영향을 받기 쉽고, T4 gene 32 산물에 의해 polymerase 활성은 현저히 활성화되지만 3' → 5' exonuclease 활성은 완전히 저해된다.
- 첨부한 10× buffer 0.1% BSA를 직접 첨가하면 다량의 백색 침전이 생기므로 반응액을 조절할 때는 다음의 순서로 시약을 첨가한다.
dH₂O → 10×buffer → 0.1% BSA → template DNA

■ 관련제품

DNA Blunting Kit (Code 6025)

Klenow Fragment (Large Fragment *E. coli* DNA Polymerase I)

MSDS

(2140AK / BK에 포함)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Klenow Fragment (Large Fragment <i>E. coli</i> DNA Polymerase I)	TKR	2140A	200 U	80,000원
Klenow Fragment (Large Fragment <i>E. coli</i> DNA Polymerase I)	TKR	2140B (A×5)	1,000 U	360,000원
Klenow Fragment (Large Fragment <i>E. coli</i> DNA Polymerase I) (2 U/μl)	TKR	2140AK	200 U	80,000원
Klenow Fragment (Large Fragment <i>E. coli</i> DNA Polymerase I) (2 U/μl)	TKR	2140BK (AK×5)	1,000 U	360,000원

■ 농도

2~5 U/μl (Code 2140A, 2140B)

2 U/μl (Code 2140AK, 2140BK)

■ 형상

(Code 2140A, 2140B)

50 mM	Potassium Phosphate (pH6.5)
10 mM	2-Mercaptoethanol
50%	Glycerol

(Code 2140AK, 2140BK)

50 mM	Potassium Phosphate (pH6.5)
10 mM	2-Mercaptoethanol
50%	Ethylene Glycol

■ 보존

- 20°C

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

(Code 2140A, 2140B)

100 mM	Tris-HCl (pH7.5)
70 mM	MgCl ₂
1 mM	DTT

[주의]

Code 2140AK, 2140BK에는 반응용 buffer가 첨부되어 있지 않습니다.

■ 기원

Escherichia coli carrying the plasmid which encodes the gene of Klenow fragment

■ 제품 설명

본 효소는 template, primer (DNA, RNA 모두 가능) 존재하에서 dNTP를 template로 하여, template에 상보적인 DNA를 5' → 3' 방향으로 합성한다.

본 효소는 *E. coli* DNA Polymerase I에 DNA 공존 하에서 subtilisin을 처리하면 5' → 3' exonuclease 활성을 갖는 N-말단 유래 분자량 35,000의 소단편과 5' → 3' DNA polymerase 및 3' → 5' exonuclease 활성을 갖는 C-말단 유래 분자량 68,000의 큰 fragment이 형성된다. 이 큰 fragment가 Klenow Fragment이다. Takara의 Klenow Fragment가 대장균의 DNA polymerase I의 구조 유전자 pol A 개시코돈으로부터 하류에 약 1,000 bp가 결실된 단편을 대장균에 클로닝하여 생산하고 있다. 따라서 3' → 5' exonuclease 활성은 포함하나 5' → 3' exonuclease 활성은 포함하지 않는다.

또한, Code 2140AK, 2140BK는 Kilo-Sequence용 Deletion Kit (Code 6030)용으로 농도를 조정한 것으로, 형상 조성의 일부를 glycerol에서 ethylene glycol으로 바꾸어 sequence gel 전기영동 시 비틀어짐이 없이 깨끗한 전기영동을 얻을 수 있도록 한 것이다.

■ 용도

- Dideoxy법에 의한 염기서열 결정 (sequencing, Sanger법)
- 이중가닥 DNA 말단의 평활화
- Oligonucleotide directed mutagenesis에 있어서 이중가닥 DNA의 합성
- Random primer를 사용하여 DNA 표식

■ 사용상의 주의

- 희석에 의해서는 실활되지 않으나 심하게 교반하면 실활할 수 있다.
- 5' → 3' Exonuclease 활성이 포함되어 있지 않으므로 nick translation 활성을 나타내지 않는다. 그러므로 이중가닥 DNA 말단과 gap의 수복에 적당하다.
- DNA polymerase I 과 같이 ddNTP를 저해없이 template로 사용한다.
- T4 DNA polymerase에 비해, template DNA의 고차구조에 대한 저항성이 높다 (고차구조의 영향을 덜 받는다).
- DNA에 대한 친화성이 강해 과량을 사용하면 aggregation이 생겨 반응이 저해받을 수 있다.
- 5' 말단의 수식에 사용하면, filling 후에 1 염기를 여분으로 추가하는 경우가 있다.

Terminal Deoxynucleotidyl Transferase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Terminal Deoxynucleotidyl Transferase	TKR	2230A	300 U	80,000원
Terminal Deoxynucleotidyl Transferase	TKR	2230B (A×5)	1,500 U	360,000원

■ 농도 7~15 U/ μ l

■ 형상

60 mM	Potassium Phosphate (pH7.2)
150 mM	KCl
1 mM	2-Mercaptoethanol
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (5×)

500 mM	HEPES (pH7.2)
40 mM	MgCl ₂
0.5 mM	DTT
0.1 %	BSA (별첨)

■ 제품설명

본 효소는 반응에 template을 필요로 하지 않고, 단일가닥 또는 이중가닥 DNA의 3' -OH 말단에 deoxynucleotide를 중합하는 반응을 촉매한다. primer가 되는 최저 3염기 이상의 oligonucleotide가 필요하다.

TdT를 이용한 단일 중합체의 부가 반응 조건은

1. 부가하는 염기의 종류 (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)
2. buffer 중의 2 가 이온의 종류 (Mn^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+})
3. 부가되는 DNA의 말단구조 (돌출 3' -OH 말단, 평활말단, 함몰 3' -OH 말단) 등의 영향을 받기 때문에 상황에 따라 최적의 조건을 찾아야 한다.

■ 용도

- Okayama-Berg법에 의한 vector-cDNA에 상보적인 단일 중합체 부가
- 표식 dNTP 또는 ddNTP에 의한 DNA의 3' 말단표식

F-c

수시
표식

수식효소/Reverse Transcriptase

※ 반응용 buffer 첨부 (1st-strand cDNA 합성반응용)

PrimeScript® Reverse Transcriptase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
PrimeScript Reverse Transcriptase	TKR	2680A	10,000 U	198,000원
PrimeScript Reverse Transcriptase	TKR	2680B (A × 4)	40,000 U	712,000원

■ 농도 200 U/ μ l

■ 형상

20 mM	Tris-HCl (pH7.8)
100 mM	NaCl
1 mM	EDTA
1 mM	DTT
50%	Glycerol (v/v)

■ 보존 -20 °C

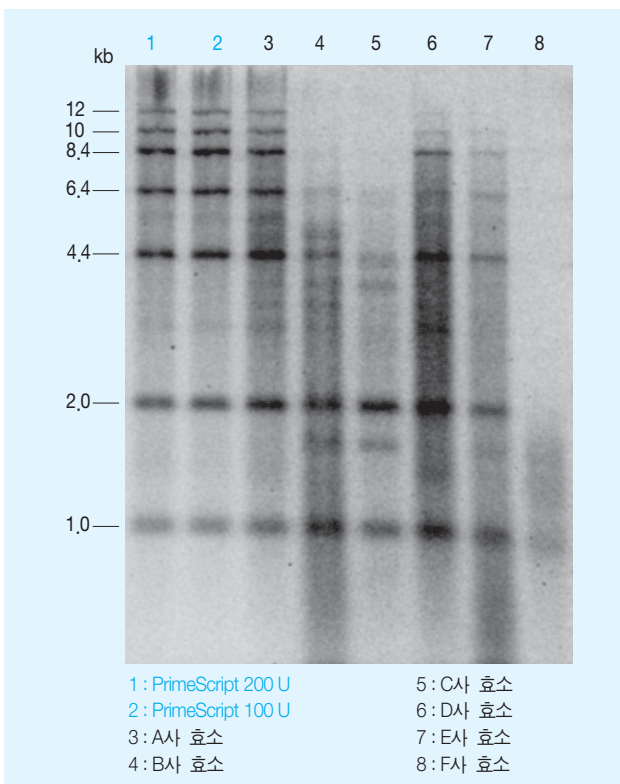
■ 5 × PrimeScript Buffer (cDNA 합성용)

250 mM	Tris-HCl (pH8.3)
375 mM	KCl
15 mM	MgCl ₂

■ 제품설명

본 제품은 M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus) 유래의 Reverse Transcriptase를 기반으로 하여 다카라가 독자적으로 개발한 신규 역전사 효소이다. 본 제품은 신장성이 매우 뛰어나 긴 cDNA를 합성할 수 있다. 또, GC rich 등과 같이 cDNA 합성이 어려운 RNA에 대해서도 RNA가 분해될 우려가 있는 고온에서의 반응은 필요하지 않고, 표준 역전사 반응 온도 (42°C)에서 효율적으로 cDNA 합성을 할 수 있다. 본 효소는 긴 cDNA의 조제나 full length cDNA의 비율이 높은 library 제작에 최적이다.

■ PrimeScript RTase를 이용하여 42°C 반응온도로, background가 적은 고품질의 cDNA 합성 가능



RNA Ladder (1~12 kb)를 template으로, PrimeScript 및 타사 RTase를 이용하여 역전사 반응.

■ 용도

- 1st-strand cDNA 합성
- cDNA probe 조제
- RT-PCR

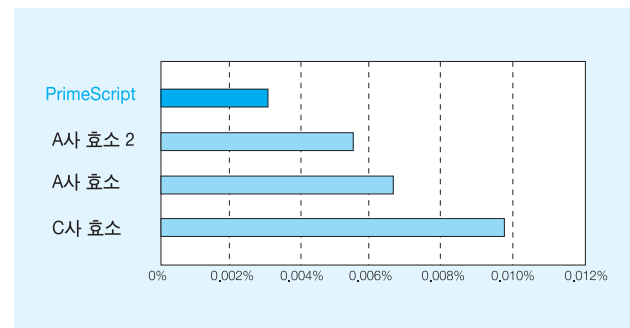
■ 1st-strand cDNA 합성시험

표준 protocol에 따라 mouse 심장 유래의 total RNA 500 ng을 template으로 하여 Oligo dT primer 50 pmol 및 본 효소 100 U를 이용하여 42°C에서 30 분간 1st-strand cDNA 합성 반응을 한다. 이 cDNA 반응액을 template으로 PCR 하여 agarose gel에 전기 영동한 결과 12 kb의 size 위치에서 명확한 밴드를 확인하였다.

■ 순도

1. 200 U의 본 효소와 1 μ g의 λ DNA-Hind III 분해물을 37°C, 1 시간 반응시켜도 DNA 전기 영동 패턴에 변화가 일어나지 않는다.
2. 200 U의 본 효소와 1 μ g의 supercoiled pBR322 DNA를 37°C, 1 시간 반응시켜도 DNA 전기 영동 패턴에 변화가 일어나지 않는다.
3. 200 U의 본 효소와 1 μ g의 23S 및 16S rRNA 혼합물을 37°C, 1 시간 반응시켜도 RNA 전기 영동 패턴에 변화가 일어나지 않는다.

■ 정확도가 매우 높은 역전사효소



Reverse Transcriptase XL (AMV)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Reverse Transcriptase XL (AMV)	LSI	2620A	500 U	290,000원

■ **농도** 15~40 U/μl

■ **형상**

200 mM	Potassium Phosphate (pH7.2)
2 mM	DTT
0.2%	Triton X-100
50%	Glycerol

■ **보존**

- 80°C 동결보존 (동결융해 반복에 따른 활성저하는 없으나 가능한 한 피할 것)
- 단기간인 경우 -20°C에 보존 가능.

■ **첨부 Buffer 조성 (cDNA 합성용, 10×/5×)**

250 mM	Tris-HCl (pH8.3)
500 mM	KCl
20 mM	DTT
50 mM	MgCl ₂

* Full length cDNA 합성 시에는 첨부 버퍼를 1/10로 희석하여 사용하세요.

■ **기원**

Avian myeloblastosis virus (AMV)

■ **제품설명**

본 제품은 AMV로부터 고도로 정제한 것이다. 약 10 kb의 긴 RNA (Poly(A)-tailed RNA Ladder (1.4~9.5 kb))를 template으로 하는 cDNA 합성 반응계에서 40~70% 이상이 역전사되어 그 중 55~80%가 full length cDNA 합성하는 것을 마커에서 확인하였다. 본 제품은 second strand 합성 저해제로써 actinomycin D 이외에, 4 mM의 sodium pyrophosphate도 사용할 수 있는 점, 또한 반응 최적온도가 높은 점에서 MMLV 유래의 역전사 효소와 다르다.

■ **용도**

- 1st strand cDNA의 합성
- RNA-PCR
- cDNA probe 조제

F-c

수식호스

RNA PCR Kit의 Component

Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Reverse Transcriptase XL (AMV) for RT-PCR Kit	LSI	2630A	250 U	200,000원

■ **농도** 5 U/μl

■ **형상**

200 mM	Potassium Phosphate (pH7.2)
2 mM	DTT
0.2 %	Triton X-100
50 %	Glycerol

■ **보존**

- 80°C 동결보존 (동결융해의 반복에 따른 활성 저하는 없으나 가급적 피할 것)
- 단기간인 경우는 -20°C에 보존가능.

■ **제품설명**

본 제품은 Avian Myeloblastosis Virus (AMV)로부터 고도로 정제한 것이다. TaKaRa에서 판매하고 있는 RNA PCR Kit AMV RTase와 같은 농도 (5 U/μl)로 조정된 것이다.

RNA Poly(A)-tailed RNA Ladder (1.4~9.5 kb)를 template으로 하는 cDNA합성 반응계 template의 40~70%가 역전사되어 그 중의 55~80%가 full length cDNA를 합성하는 것을 확인하였다.

또, 본 제품은 아래 표기한 제품에 포함된 AMV Reverse Transcriptase XL과 동일하다.

- TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 2.1 (Code RR019A/B)
- TaKaRa RNA LA PCR Kit (AMV) Ver.1.1 (Code RR012A)
- TaKaRa One Step RNA PCR Kit (AMV) (Code RR024A/B)
- mRNA Selective PCR Kit Ver.1.1 (Code RR025A/B)
- 3' - Full RACE Core Set (Code 6121)
- 5' - Full RACE Core Seta Code 6122)
- Enzyme Set-FDD (Code R025A/B)
- Enzyme Set-DD (Code R024A/B)

Reverse Transcriptase M-MLV (RNaseH free)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Reverse Transcriptase M-MLV (RNaseH free)	TKR	2640A	10,000 U	297,000원
Reverse Transcriptase M-MLV (RNaseH free)	TKR	2640B (A×5)	50,000 U	1,336,000원

■ 농도 200 U/ μ l

■ 형상

20 mM	Tris-HCl (pH7, 5)
200 mM	NaCl
0,1 mM	EDTA
1,0 mM	DTT
0,01 %	Nonidet P-40
50 %	Glycerol (v/v)

■ 보존 -20℃

■ 5×Buffer 조성 (cDNA 합성용, 1 ml)

250 mM	Tris-HCl (pH8,3)
375 mM	KCl
50 mM	DTT
15 mM	MgCl ₂

■ 제품설명

Reverse Transcriptase M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus)는 마우스 백혈병 바이러스 유래의 역전사 효소로 RNA dependent DNA Polymerase 활성과 DNA dependent DNA polymerase 활성을 갖는다. 또 M-MLV는 RNase H 활성 즉 RNA/DNA hybrid의 사슬 중에 RNA 가닥을 endonucleolytic 형태로 분해하는 활성을 가지고 있어 1st-strand cDNA 합성 반응 중에 RNA/DNA hybrid 사슬을 분해할 가능성이 있다.

본 제품은 point mutation에 의해 RNaseH 활성을 제거하므로 wild type의 RTase M-MLV와 거의 동등한 DNA polymerase 활성을 유지하고 deletion type의 RTase M-MLV (RNaseH free)에 비해 합성능력이 우수하다. template mRNA를 분해하지 않기 때문에 긴 cDNA의 조제나 full length cDNA 비율이 높은 library 실험에 최적이다.

F-c

수지표시

역전사반응을 위한 Primer

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Random Primers (6 mers : pd (N)6)	TKR	3801	80 nmol	129,000원
Random Primers (9 mers : pd (N)9)	TKR	3802	50 nmol	129,000원
Oligo(dT)15 Primer	TKR	3805	8 nmol	129,000원

■ 형상 동결건조품

■ 보존

Random Primer -20℃, 실온수송

Oligo(dT)₁₅ Primer -20℃

■ 제품설명

Random Primer

Random한 염기서열을 갖는 6 mer 또는 9 mer의 deoxyribonucleotide mixture (46개 또는 49개의 서열이 가능)로 5' 말단이 인산화되어 있다.

pd(N)₆ 80 nmol은 약 150 μ g, 약 5 OD가 된다.

pd(N)₉ 50 nmol은 약 150 μ g, 약 5 OD가 된다.

Oligo(dT)₁₅ Primer

15개의 T로 되어있는 oligonucleotide

8 nmol은 약 1 OD가 된다.

■ 용도

- mRNA로부터 cDNA를 합성할 때 oligo dT나 primer 대응으로 사용한다.
- 표식 dCTP와의 조합에 의해 nick translation법 대응의 DNA 표식법으로 사용할 수 있다. probe제작 후 그대로 hybridization도 가능하다.
- RT-PCR의 1st strand 합성 primer로 사용한다.

■ 사용상의 주의

본 제품 (Code 3801)을 RNase free dH₂O 4 ml 에 용해한 것 (최종농도 20 μ M) 또는 제품 (Code 3802)을 RNase free dH₂O 1 ml 에 용해한 것 (최종농도 50 μ M)은 TaKaRa RNA PCR Kit 제품에 적용할 수 있다.

Oligo(dT)₁₅ Primer(Code 3805)는 Code 6110A, 6210A, RR014A, RR037A에 포함되어 있는 Oligo(dT) Primer와는 서열이 다르다.

수식효소/RNA Polymerase

Cloned

※ 반응용 버퍼 첨부

SP6 RNA Polymerase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
SP6 RNA Polymerase	TKR	2520A	3,000 U	189,000원
SP6 RNA Polymerase	TKR	2520B (A×5)	15,000 U	850,000원

■ 농도 10~50 U/ μ l

■ 형상

10 mM	Potassium Phosphate (pH7.9)
1 mM	DTT
0.1 mM	EDTA
150 mM	NaCl
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

400 mM	Tris-HCl (pH7.5)
60 mM	MgCl ₂
20 mM	Spermidine
100 mM	DTT [별첨]
0.1%	BSA [별첨]

■ 기원

Escherichia coli carrying the plasmid containing phage SP6 RNA polymerase gene

■ 제품설명

본 효소는 5' → 3' RNA polymerase 활성을 가지며 SP6 promoter를 포함하는 dsDNA를 template으로 하여 NTP를 template로 promoter 하류의 단일가닥 DNA에 상보적인 RNA를 합성한다. SP6 promoter 서열에 높은 특이성을 나타내고, 다른 생물 유래의 promoter는 인식하지 않는다.

■ 용도

- Northern hybridization과 Southern hybridization용의 표식 RNA probe의 제작
- RNA splicing 반응의 전구체의 제작
- Cap analog를 primer로 사용한 capped mRNA의 제작

■ 사용상의 주의

- 최적 pH는 7.5, Mg²⁺와 환원제를 요구하고, BSA와 spermidine의 첨가에 의해 활성화된다.
- 사용시, 첨부 버퍼에 반드시 DTT와 BSA를 첨가할 것. 이들을 함유하지 않으면 활성화되지 않는 경우가 있다.
- 최적 온도는 40℃ (37℃의 약 130%)로, 효소량은 300 U/ml까지, template량 (template DNA)은 100 μ g/ml까지는 합성량에 대해 (+) 상관 관계를 나타낸다. 반응시간이 1시간을 초과하는 경우는 37℃가 바람직하다.
- 특정 영역만의 전사효율을 높이기 위해서는 그 영역의 하류에 template DNA를 평할 또는 5' 돌출말단형으로 절단하는 것이 좋다.

F-c

수식효소

T7 RNA Polymerase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
T7 RNA Polymerase	TKR	2540A	5,000 U	80,000원
T7 RNA Polymerase	TKR	2540B (A×5)	25,000 U	360,000원

■ 농도 10~50 U/ μ l

■ 형상

20 mM	Potassium Phosphate (pH7.9)
1 mM	DTT
0.1 mM	EDTA
100 mM	NaCl
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

400 mM	Tris-HCl (pH8.0)
80 mM	MgCl ₂
20 mM	Spermidine
50 mM	DTT (별첨)

■ 기원

Escherichia coli carrying the plasmid containing phage T7 RNA polymerase gene

■ 제품설명

5' → 3' RNA polymerase의 활성을 가지며 T7 promoter 서열을 포함하는 이중 가닥 DNA를 template, NTP를 기질로 하여, promoter 하류서열의 단일가닥 DNA에 상보적인 RNA를 합성한다. T7 promoter 에 높은 특이성을 나타내고, 기타 다른 생물 유래의 promoter는 인식하지 않는다.

■ 용도

- Northern hybridization과 Southern hybridization용의 표식 RNA probe의 제작
- RNA splicing 반응의 전구체의 제작
- Cap analogue를 primer로 사용한 capped mRNA의 제작
- 단일가닥 RNA 합성
- siRNA precursor 제작

F-c

수지표시

Poly (A) Polymerase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Poly (A) Polymerase	TKR	2180A	20 U	98,000원
Poly (A) Polymerase	TKR	2180B (A×5)	100 U	441,000원

■ 농도 0.2~2.0 U/ μ l

■ 형상

25 mM	Tris-HCl(pH7.9)
500 mM	NaCl
1 mM	EDTA
0.1 mM	DTT
50 %	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 기원

Escherichia coli B

■ 제품설명

본 효소는 각종 polynucleotide의 3' 말단에 adeny산기를 중합하는 효소이다. 단일가닥 RNA는 primer로 사용할 수 있으나 이중가닥 RNA, 합성 poly nucleotide, 짧은 oligo nucleotide 등은 primer가 되기 어렵다. DNA는 primer로 적용하지 않는다. 이 효소는 AMP 잔기를 중합하지만 기질로서는 ATP만을 이용하므로, ADP, dATP는 기질이 될 수 없다. 또 UTP, CTP의 template 이용율은 ATP의 5% 이하이고, GTP는 중합할 수 없다.

■ 용도

- RNA에의 poly (A) tail의 부가
- RNA의 3' 말단 표식

수식효소/Nucleases

Nuclease의 특성 비교

	S1 Nuclease	Mung Bean Nuclease	BAL31 Nuclease	Exonuclease I	Exonuclease III
반응 특이성	Endonuclease ssDNA, ssRNA	Endonuclease ssDNA, ssRNA	Endonuclease ssDNA Exonuclease 5' → 3', 3' → 5' ssDNA	Exonuclease 3' → 5' dsDNA	Exonuclease 3' → 5' dsDNA
최종 생성물	5' -P mononucleotide 5' -P oligonucleotide	5' -P mononucleotide 5' -P oligonucleotide	5' -P mononucleotide	5' -P mononucleotide	ssDNA 5' -P mononucleotide
분자량	32,000	39,000	73,000-83,000	52,000	28,000
최적 pH	4.5	5.0	8.1	9.5	8.0
금속이온	Zn ²⁺	Zn ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺	Mg ²⁺	Mg ²⁺

	Ribonuclease H	Micrococcal Nuclease	Recombinant DNase I
반응 특이성	RNA-DNA Hybrid 특이적 Endonuclease	Endonuclease ssDNA, dsDNA, ssRNA	Endonuclease ssDNA, dsDNA
최종 생성물	ssDNA 5' -P oligonucleotide	3' -P mononucleotide 3' -P oligonucleotide	5' -P oligonucleotide
분자량	21,000	16,800	39,000
최적 pH	8.0	9.2	7.0-8.0
금속이온	Mg ²⁺ , Mn ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺ , Mn ²⁺

F-c

수식효소

※ 반응용 버퍼 첨부

S1 Nuclease

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
S1 Nuclease	TKR	2410A	20,000 U	80,000원
S1 Nuclease	TKR	2410B (A×5)	100,000 U	360,000원

■ 농도 100~200 U/μl

■ 형상

10 mM	CH ₃ COONa (pH4.6)
150 mM	NaCl
0.05 mM	ZnSO ₄
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (10×)

300 mM	CH ₃ COONa (pH4.6)
2,800 mM	NaCl
10 mM	ZnSO ₄

■ 기원

Aspergillus oryzae

■ 제품설명

본 효소는 단일가닥에 특이적으로 작용하는 endonuclease로써 DNA, RNA 모두 산가용성 5' -P nucleotide로 분해하며, 최종적으로 90% 이상 5' - mononucleotide로 분해한다. 이중가닥 핵산 속의 단일가닥 부분에도 작용하여 분해한다.

■ 용도

- DNA-DNA와 DNA-RNA hybrid 중 단일가닥 부분 제거
- dsDNA 말단의 평활화
- S1 mapping

Mung Bean Nuclease

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mung Bean Nuclease	TKR	2420A	2,000 U	92,000원
Mung Bean Nuclease	TKR	2420B (A×5)	10,000 U	414,000원

■ 농도 10~50 U/μl

■ 형상

10 mM	Tris-HCl (pH7.5)
0.1 mM	(CH ₃ COO) ₂ Zn
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 버퍼 조성(10×)

300 mM	CH ₃ COONa (pH5.0)
1,000 mM	NaCl
10 mM	(CH ₃ COO) ₂ Zn
50%	Glycerol

■ 기원

Mung bean sprouts

■ 제품설명

본 효소는 단일가닥 특이적인 endonuclease로써 5' -P 말단을 갖는 mono 또는 oligonucleotide를 생성한다. 과량 (1,000배)의 효소를 사용하면, oligomer도 전부 mononucleotide가 된다. 이중가닥 DNA와 RNA, 또는 DNA-RNA의 hybrid에 대해서는 다량의 효소를 사용하지 않으면 분해되지 않는다. 이 경우는 AT-rich 영역을 선택적으로 분해한다. A↓pN, T↓pN site를 선호해, 특히 A↓pN site는 100% 분해하지만 C↓pC, C↓pG site는 분해하기 어렵다.

■ 용도

- Hybridization의 mapping (S1 mapping)
특히 본 효소는 S1 nuclease와 비교하여 과소화 (nibbling)하지 않아 정확한 밴드를 형성한다.
- dsDNA 말단의 평활 말단화 (단, 평활화의 효율은 염기서열에 의존하므로 주의할 것)

■ 사용상의 주의

- 이중가닥 식별능력은 염기서열에 의존하고 있어, 절단점으로 A↓pN과 T(U)↓pN을 선호한다. 특히 A↓pA를 완전히 분해하지만 G와 C의 서열을 거의 분해하지 않는다.
- S1 Nuclease와 달리, nick의 반대쪽 가닥은 절단하지 않는다.

F-c

수지효소

BAL 31 Nuclease

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
BAL 31 Nuclease	TKR	2510A	50 U	98,000원
BAL 31 Nuclease	TKR	2510B (A×5)	250 U	441,000원

■ 농도 1~3 U/μl

■ 형상

20 mM	Tris-HCl (pH8.0)
100 mM	NaCl
5 mM	CaCl ₂
5 mM	MgCl ₂
1 mM	EDTA
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (5×)

40 mM	Tris-HCl (pH8.0)
1,200 mM	NaCl
24 mM	CaCl ₂
24 mM	MgCl ₂
2 mM	EDTA

■ 기원

Alteromonas espejana BAL31

■ 제품설명

본 효소는 해양성 세균 A. espejana BAL31가 균체 외로 생산하는 단일가닥 DNA 특이적인 endonuclease이지만, 단일가닥 DNA가 없으면 이중가닥 DNA에 작용하여 양 말단으로부터 동시에 분해하는 5' → 3', 3' → 5' exonuclease 활성 (trimming 활성)을 나타낸다. 최종 산물은 5' -P mononucleotide이다. 본 효소는 분자량 약 83 kDa의 (F)형과 분자량 약 73 kDa의 (S)형이 존재하며, (F)형이 exo/endo의 활성의 비가 10~20배 높다. 두 형에는 exonuclease 활성이 상대적으로 다른 것 외에 반응조건 등의 차이는 확인되지 않는다. BAL31은 F형을 주로하는 S형 nuclease와의 mixture이다.

■ 용도

- DNA 단편의 양말단에서부터의 한정분해 (결실의 제작)
(결실의 길이가 1,000 염기 정도가 적당하다. 그 외의 경우는 Exonuclease III와 S1 nuclease의 조합으로 하는 것이 좋다.)

■ 사용상의 주의

- 단일가닥 DNA endonuclease 활성은 반응온도를 30 → 20℃로 낮추면 1/10 정도까지 떨어지나, dsDNA exonuclease 활성의 잔존은 1/3 정도이다.
- Endonuclease 활성은 염농도에 영향받지 않으나 exonuclease 활성은 염농도가 높을수록 저하한다.
- Trimming 활성의 최적 염농도는 200 mM NaCl 부근으로 이보다 낮으면 무작위적으로 분해할 수 있다.
- 분해활성은 염기에 대한 의존성이 높고 GC-rich인 영역 (특히, Sma I site)은 분해되기 어려우므로 말단의 제한효소 site를 선택할 필요가 있다.
- 반응은 distributive 효소 농도에 의존성이 높고 희석에 대해 직선적 상관은 나타내지 않으며, 효소반응이 너무 빠른 경우는 효소량을 줄이는 것보다는 반응 온도를 낮추는 것이 바람직하다.
- 본 효소에 의해 생긴 말단의 평활화율은 10% 정도로 낮고, ligation 효율을 높이기 위해서는 T4 DNA polymerase에 의한 말단의 수복이 필요하다.

Exonuclease I

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Exonuclease I	TKR	2650A	750 U	64,000원
Exonuclease I	TKR	2650B (A×5)	3,750 U	288,000원

■ 농도 5 U/ μ l

■ 형상

20 mM	Tris-HCl (pH7.5)
0.5 mM	EDTA
5 mM	2-Mercaptoethanol
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 Buffer 조성 (10 ×)

670 mM	Glycine-KOH (pH9.5)
100 mM	2-Mercaptoethanol
67 mM	MgCl ₂

■ 기원

Escherichia coli JM109 carrying plasmids encoding the gene for *E. coli* exonuclease I.

■ 제품설명

본 효소는 DNA의 phosphodiester 결합의 가수분해를 촉매함으로써 ssDNA의 3'-OH 말단으로부터 5'-mononucleotide를 유리시키는 3' → 5' exonuclease이다. 본 효소는 ssDNA에 대한 특이성이 매우 높고 dsDNA나 RNA는 분해하지 않는다. 본 효소는 80℃, 15 분간 열처리하여 실험시킬 수 있다.

■ 용도

- 반응액에서 ssDNA의 제거
- PCR 반응 후 잔존 primer의 분해

Exonuclease III

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Exonuclease III	TKR	2170A	5,000 U	66,000원
Exonuclease III	TKR	2170B (A×5)	25,000 U	297,000원

■ 농도 100~300 U/ μ l

■ 형상

25 mM	Tris-HCl (pH8.0)
50 mM	KCl
0.5 mM	DTT
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

(6개월 이상의 장기보존의 경우는 -80℃에서 동결보존)

■ 첨부 Buffer 조성 (10 ×)

500 mM	Tris-HCl (pH8.0)
50 mM	MgCl ₂
100 mM	2-Mercaptoethanol

■ 기원

Escherichia coli BE 257/pSGR 3 (B. Weiss박사로부터 공여)

■ 제품설명

본 효소는 DNA의 phosphodiester 결합의 가수분해를 촉매함으로써 이중가닥 DNA의 3'-OH 말단으로부터 5'-mononucleotide를 유리시키는 3' → 5' exonuclease이다. DNA의 3' 말단이 OH가 아닌 경우는 3'-phosphatase로서, apurinic acid, apyrimidic acid 부위에 대해서는 phosphodiester 결합을 절단하는 AP endonuclease로서 작용하고, RNaseH의 활성도 갖는다.

본 효소는 dsDNA에 대한 특이성이 극히 높고, 평활말단, 3'-recessed end, 그리고 nicking site로부터 분해가 가능하지만, 3'-돌출말단은 분해하지 않는다 (사용상의 주의 참조). 따라서, 다른 말단을 형성하는 제한효소로 2중 절단(double digestion)하므로써 한쪽 방향으로 부터의 분해가 가능하다.

최종 생성물은 dsDNA의 상보 DNA와 5'-P mononucleotide이다.

본 효소의 염기서열 특이성은 BAL31 nuclease에 비하여 낮지만, GC rich site에서 반응이 정지하는 빈도가 적기 때문에 DNA의 deletion 제작에 편리하다.

■ 용도

- dsDNA 단편 부분분해에 의한 DNA polymerase의 template가 되는 일부 ssDNA의 생성 (생성된 DNA는 dideoxy법에 의한 DNA의 염기서열 결정에 사용이 가능하다)
- ssDNA 특이적 nuclease (S1 또는 Mung Bean Nuclease)와의 병용에 의한 DNA단편 결실 제작
- 본 효소는 dsDNA에 고도의 특이성을 갖고 있으므로, dsDNA 절단단편 (예를 들면 *EcoR* I-*Pst* I 단편)에 대해서는, 한쪽 (*EcoR* I 쪽)방향에서만의 결실을 제작할 수 있다.
- DNA - 단백질의 상호 작용의 해석도 DNA의 전기영동 패턴에 변화가 없다.

■ 사용상의 주의사항

- 효소의 성질상 DNA 말단이 3' 돌출형이라도 그 말단의 형상과 서열에 따라서 template로써 분해되는 경우가 있다. 분해되는 것이 확인된 제한효소 절단 말단의 예
 - 1 염기 돌출형 (*Eam*1105 I 등)
 - 2 염기 돌출형 (*Pvu* I, *Sac* II 등)
 - 3 염기 돌출형 (*Sfi* I 등)
 - 4 염기 돌출형 (*Apa* I 절단 말단은 분해되는 것이 확인되어 있다. 또 *Ban* II, *Bst*X I도 서열에 따라서는 분해될 가능성이 있다)

Micrococcal Nuclease

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Micrococcal Nuclease	TKR	2910A	15,000 U	261,000원

■ 농도 15~30 U/ μ l

■ 형상

50 mM	Tris-HCl (pH8,0)
10 mM	2-Mercaptoethanol
50 mM	NaCl
50%	Glycerol

■ 첨부 Buffer 조성 (10 \times)

200 mM	Tris-HCl (pH8,0)
50 mM	NaCl
25 mM	CaCl ₂

■ 보존 -20 $^{\circ}$ C

■ 기원

Staphylococcus aureus 배양 상층액

■ 제품설명

본 효소는 endonuclease로서 단일가닥과 이중가닥의 핵산에 작용하여 3' - phosphate 말단을 형성한다. 단일가닥 핵산에 대하여 반응성이 강하고 DNA 또는 RNA의 AT-또는 AU-rich 지역을 특히 잘 분해한다. 본 효소는 활성에 Mg²⁺를 필요로 하지 않고 Ca²⁺ 이온을 필요로 한다.

■ 용도

- 세포 추출액 중의 핵산성분 가수분해
- Nucleosome을 조제하기 위한 크로마틴 소화

■ 사용상의 주의

본 효소의 활성은 Ca²⁺에 절대적으로 의존한다. EDTA 또는 EGTA로 반응을 정지할 수 있다.

F-c

수시표소

Recombinant DNase I (RNase-free)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Recombinant DNase I (RNase-free)	TKR	2270A	1,000 U	117,000원
Recombinant DNase I (RNase-free)	TKR	2270B (Ax5)	5,000 U	526,000원

■ 농도 5 U/ μ l

■ 형상

20 mM	Tris-HCl, pH7,5 (4 $^{\circ}$ C)
50 mM	NaCl
0,1 mM	CaCl ₂
50 %	Glycerol

■ 보존 -20 $^{\circ}$ C

■ 첨부 Buffer 조성 (10 \times DNase I 버퍼)

400 mM	Tris-HCl, pH7,5
80 mM	MgCl ₂
50 mM	DTT

■ 제품설명

Recombinant DNase I (RNase-free)은 소 체장유래의 DNase I 유전자를 발현·정제한 재조합 단백질로 ss, ds DNA를 효율적으로 무작위 분해하여 5' - P 말단을 갖는 oligonucleotide를 생성하는 endodeoxyribonuclease이다. Mg²⁺ 존재 하에서는 dsDNA에 무작위적으로 nick을 만들지만, Mn²⁺ 존재 하에서는 두가닥을 동시에 절단하여 DNA를 단편화한다.

본 효소는 사용상 문제가 되지 않는 수준까지 protease 및 RNase를 제거하고 있기 때문에, 중성 영역에서의 안정성이 향상되어 RNA 조제 시 안전하게 이용할 수 있다.

■ 기원

소 체장 DNase I 유전자를 비동물성 숙주에서 발현시킴

■ 용도

- RT-PCR전 단계에서 genome DNA 제거에 사용
- DNA Polymerase I (Code 2130)과 함께 nick translation에 사용
- Mn²⁺ 존재 하에서 shot gun sequencing을 위한 DNA library 제작에 사용
- DNA-단백질의 상호작용을 조사하는 footprint법에 사용
- T7 혹은 SP6 RNA Polymerase를 이용해 *in vitro* transcription에 의한 RNA합성 후, 버퍼를 교환하지 않고 template DNA를 분해하는데 사용

Ribonuclease H (RNase H)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Ribonuclease H (RNase H)	TKR	2150A	1,000 U	98,000원
Ribonuclease H (RNase H)	TKR	2150B (A×5)	5,000 U	441,000원

■ 농도 20~60 U/ μ l

■ 형상

25 mM	Tris-HCl (pH7,5)
30 mM	NaCl
0,5 mM	EDTA
5 mM	2-Mercaptoethanol
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 기원

Escherichia coli HB101 containing *E. coli* rnh plasmid (pKH11) and regulator plasmid (pNT203)

■ 제품설명

본 효소는 RNA-DNA hybrid의 RNA 가닥을 특이적으로 분해하는 효소이다.

■ 용도

- Okayama-Berg법에 의한 cDNA cloning
- DNA-RNA hybrid의 검출
- Oligo(dT) 존재하에서 mRNA의 Poly(A) 말단 제거

저온에서 단백질 용액의 핵산 제거와 점성의 감소를 위한

Cryonase™ Cold-active Nuclease

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Cryonase Cold-active Nuclease	TKR	2670A	10,000 U	98,000원
Cryonase Cold-active Nuclease	TKR	2670B	50,000 U	441,000원

■ 농도 20 U/ μ l

■ 형상

10 mM	Tris-HCl, pH7,5
20 mM	NaCl
2 mM	MgCl ₂
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 기원

제조합 대장균에서 발현

■ 제품설명

Cryonase Cold-active Nuclease는 저온균 *Shewanella* sp. 유래의 endonuclease를 제조합 대장균에서 발현·정제한 것으로 모든 DNA 및 RNA 기질(single strand, double strand, linear form, circular form)을 저온에서 절단 가능하다.

얼음 위에서도 활성을 나타내기 때문에, 단백질 등 열에 불안정한 물질을 포함한 샘플 중의 핵산을 분해할 때에 유용하다. 본 제품은 교토 대학 화학 연구소에 자키 마코토 칸바시 교수들의 연구 그룹과의 공동 연구에 의해 개발된 제품으로, 당사가 *Shewanella livingstonensis* Ac10균체의 제공을 받아 게놈 해석을 실시하여 제작하였다.

DNA Topoisomerase I

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
DNA Topoisomerase I	TKR	2240A	100 U	98,000원
DNA Topoisomerase I	TKR	2240B (A×5)	500 U	441,000원

■ 농도 5~20 U/μl

■ 형상

20 mM	Potassium Phosphate (pH7.2)
50 mM	KCl
0.05 mM	EDTA
5 mM	2- Mercaptoethanol
0.02%	BSA
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 첨부 버퍼 조성(10×)

350 mM	Tris-HCl (pH8.0)
720 mM	KCl
50 mM	MgCl ₂
50 mM	DTT
50 mM	Spermidine
0.1%	BSA (별첨)

■ 기원

Calf thymus

■ 제품설명

본 효소는 그림에 나타난 4 종류의 반응을 촉매하는 효소이다. 송아지 흉선 유래이므로 원핵생물 유래 효소와 성질이 달라, Mg²⁺이 존재하지 않아도 활성을 나타낸다. 또, 원핵생물의 DNA Topoisomerase I이 (-)의 supercoil 분자에만 작용하는데 반해 본 효소는 (+), (-)의 supercoil 분자를 이완할 수 있다 (그림).

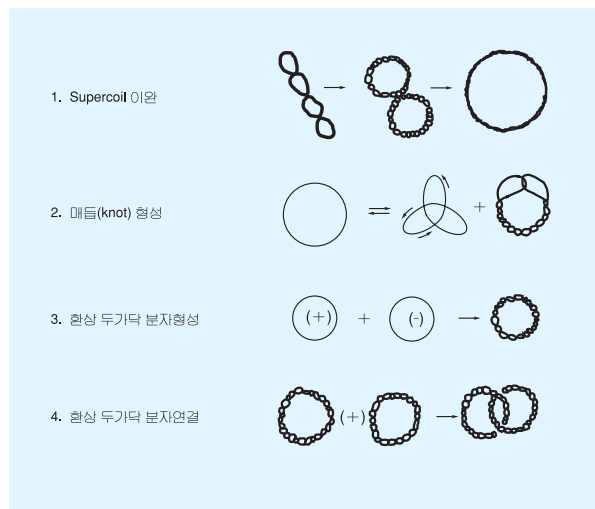


그림 DNA Topoisomerase I이 촉매하는 반응

1. DNA의 supercoil 상태를 이완
2. ss DNA 분자 내에 DNA 가닥의 매듭을 만들거나 (knotting), 역형태로의 반응 (unknotting)
3. 상보적인 염기서열을 갖는 ssDNA로부터 ds closed circular DNA 분자를 형성하는 반응
4. 두 ds circular DNA 분자의 어느 한쪽에 nick이 존재할 경우 두 분자의 연결반응 (catenation) 또는 역반응 (decatenation)을 촉매

■ 용도

- DNA conformation의 변환과 해석

■ 사용상의 주의

- 첨부 반응액에는 spermidine (최종농도 5 mM)이 첨가되어 있다. Spermidine을 첨가하지 않는 경우 활성이 1/20정도로 저하할 수 있다. Spermidine을 첨가할 때는 HCl로 pH8.0로 조정하여 사용할 것.
- pBR322 DNA와 ϕX174 DNA의 RF I (supercoil 분자)을 DNA Topoisomerase I으로 반응한 후, EtBr이 포함되어 있는 gel에 전기영동하면 전기영동 밴드의 위치에 변화가 일어나지 않는다. 이것은 DNA Topoisomerase I에 의해 relaxed form으로 변환한 DNA가 EtBr의 영향으로 다시 supercoil 상태로 변해 버리기 때문이다. 따라서 DNA Topoisomerase I활성을 측정할 때는 EtBr이 포함되지 않은 agarose gel에서 전기영동을 실시한 다음 EtBr로 염색할 필요가 있다.
- 10× buffer에 0.1% BSA를 직접 첨가하면 다량의 백색 침전이 생기므로 반응액을 조제할 때는 다음의 순서로 한다.
dH₂O → 10×buffer → 0.1% BSA → template DNA
- 본 효소는 유리나 플라스틱에 대하여 흡착성이 크므로 반응할 때는 BSA (Bovine Serum Albumin)를 첨가하는 것이 바람직하다.

Ribonuclease Inhibitor (Porcine Liver)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Ribonuclease Inhibitor (Porcine Liver 유래)	TKR	2311A	5,000 U	129,000원
Ribonuclease Inhibitor (Porcine Liver 유래)	TKR	2311B (A×5)	25,000 U	580,000원

■ 농도 40 U/ μ l

■ 형상

20 mM	HEPES-KOH (pH7.5)
50 mM	KCl
5 mM	DTT
50 %	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 제품설명

본 효소는 돼지 간장에서 고정화 RNase A 컬럼을 이용하여 affinity 정제한 것이다. RNaseA와 1:1 복합체를 형성하여 ribonuclease 작용에 대하여 높은 비길항 저해 (Porcine Liver 유래 : $K_i = 4 \times 10^{-10}$ M)를 나타낸다. 그러나 이 반응은 가역적이므로, Urea 또는 sulfhydryl 시약에 의해 복합체를 해리시킴으로써 ribonuclease 활성이 되살아난다. 이 경우 inhibitor는 비가역적으로 실활되며, 종래의 길항성 저해제 (nucleotide류, 무기 인산류)와는 달리 단백질이므로 반응 계로부터 phenol처리로 간단히 제거할 수 있다. 한편 RNase H 활성은 저해하지 않는다.

■ 용도

- cDNA 합성반응 (Ribonuclease inhibitor 0.5 U/ μ l reaction)
- Polysome isolation (Ribonuclease inhibitor 1,000 U/ml reaction)
- *In vitro* translation (Ribonuclease inhibitor 1 U/ μ l reaction)
- *In vitro* transcription with cell-free extract (Ribonuclease inhibitor 20 U/ μ l reaction)
- *In vitro* transcription with SP6 or T7 RNA polymerase (Ribonuclease inhibitor 1 U/ μ l reaction)

■ 사용상의 주의

효소활성은 넓은 pH 영역에서 나타나며 pH7~8에서 최대에 이른다.

F-c

수식호스

Recombinant RNase Inhibitor

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Recombinant RNase Inhibitor	TKR	2313A	5,000 U	117,000원
Recombinant RNase Inhibitor	TKR	2313B (Ax5)	25,000 U	526,000원

■ 농도 40 U/ μ l

■ 형상

20 mM	HEPES-KOH (pH7.5)
50 mM	KCl
5 mM	DTT
50%	Glycerol

■ 보존 -20℃

■ 기원

돼지 간의 Ribonuclease Inhibitor 유전자를 *E. coli* 에서 발현시킴

■ 제품설명

Recombinant RNase Inhibitor는 돼지 간 유래의 RNase Inhibitor를 대장균 숙주에서 발현, affinity 컬럼 등을 이용하여 정제한 재조합 단백질이다. 인간 태반이나 돼지 간에서 직접 조제한 RNase inhibitor와 매우 유사한 성질을 가지며 RNase A와 1:1 복합체를 형성하여 ribonuclease 작용에 대해 저해 활성을 나타낸다.

이 반응은 가역적이므로, urea 또는 sulfhydryl 시약에 의해 복합체를 해리시킴으로써 ribonuclease 작용이 되살아난다. 이 경우, inhibitor는 비가역적으로 실활되며, 기존의 길항성 저해제 (nucleotide류, 무기인산류)와는 달리 단백질이므로 phenol 처리로 반응계에서 간단히 제거할 수 있다. 또한, RNase H 활성은 저해하지 않는다.

본 제품은 인체 태반 유래와 돼지 간 유래의 RNase inhibitor처럼 사용할 수 있다.

■ 용도

- cDNA 합성 반응 (Ribonuclease Inhibitor, 0.5 U/ μ l reaction)
- *in vitro* translation (Ribonuclease Inhibitor, 1 U/ μ l reaction)
- *in vitro* transcription with cell-free extract (Ribonuclease Inhibitor, 20 U/ μ l reaction)
- *in vitro* transcription with SP6 or T7 RNA polymerase (Ribonuclease Inhibitor, 1 U/ μ l reaction)
- Polysome isolation (Ribonuclease Inhibitor, 1,000 U/ml reaction)

Linkers & Adaptors

Phosphorylated Linkers

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pEcoR I	TKR	4640P	5,000 pmol	193,000원
pHind III	TKR	4660P	5,000 pmol	193,000원
pNot I	TKR	4967P	5,000 pmol	193,000원
pSal I	TKR	4680P	5,000 pmol	193,000원
pSma I	TKR	4585P	5,000 pmol	193,000원

- **형상** 동결건조품
- **보존** -20℃, 실온 수송

- **용도**
 - 5' 말단이 인산화 되어 있으므로 그대로 ligation 반응에 사용할 수 있다.
 - 8 mer, 10 mer, 12 mer의 linker를 구분하여 사용함으로써 구조유전자의 frame을 맞추어 vector에 외래 유전자를 cloning할 수 있다.

- **사용상의 주의**
 - 본 제품은 single strand oligonucleotide이다.
 - 적당한 용액 (100 mM Tris-HCl (pH7.6), 5 mM MgCl₂, 300 mM NaCl 등)에 용해하여 70℃에서 10 분간 보온 후 서서히 냉각하며 annealing하여 다음 반응에 사용한다.

F-c

수지표시

평활말단을 돌출말단으로 변환

Adaptors

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Linker, pSma I phosphorylated (6mer)	TKR	4585P	5,000 pmol	193,000원

- **형상** 동결건조품
- **보존** -20℃, 실온 수송
- **용도**

평활말단을 돌출말단으로 변환
본 Adaptors (Code 4501~4503, 4505)는 pSma I Linker (TaKaRa Code 4585P)와 annealing 하여 Sma I 사이트를 만들어 사용한다.

- **사용상의 주의**
Code 4501을 Bgl II 사이트에 사용하는 경우와 Code 4503을 Hind III 사이트에 사용하였을 때는 제한효소 사이트가 소실된다.

- **관련제품**
MEGALABEL (Code 6070)
DNA Ligation Kits (Code 6021/6022/6023)

Double strand adaptor

EcoR I-Not I-BamH I Adaptor

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Adaptor, EcoRI-NotI-BamHI	TKR	4510	1,000 pmol	239,000원

- **형상** 동결건조품
- **보존** -20℃, 실온 수송

■ **서열**
5' HO-AATTTCGGCGGCCGCGATCC
GCCGCGGCGCCTAGG - p5'

- **제품설명**
인산화된 것과 인산화하지 않은 것, 2종류의 자기상보적이지 않은 oligonucleotide로 형성된 이중가닥의 adaptor로 EcoR I 사이트 외 내부에 Not I, BamH I 사이트를 갖고 있다. 미리 annealing한 상태이므로 그대로 멸균수 또는 TE buffer에 용해하여 사용할 수 있다.

- **용도**
본 adaptor는 내부에 Not I, BamH I 사이트를 가지고 있으므로 EcoR I 이외에 이들 제한효소로도 vector에 도입시킨 단편을 잘라낼 수 있다. 특히, Not I은 8 염기 인식효소로 vector DNA나 도입한 DNA 단편중에 이 사이트가 존재할 확률이 매우 낮아 도입시킨 DNA 단편을 완전한 형태로 잘라낼 수 있는 등 유용성이 높다. 통상의 linker를 사용할 경우, vector 속에 DNA 단편을 삽입한 경우 드물게 말단에 이상이 생겨 삽입한 단편을 vector로부터 잘라낼 수 없는 경우가 있으나, 본 adaptor를 사용하면 안쪽의 Not I 사이트나 BamH I 사이트를 이용하여 삽입단편을 잘라낼 수 있다.

뉴클레오타이드 & 기질 DNA

Deoxyribonucleoside 5' -Triphosphates

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
dATP	TKR	4026	100 μ mol	176,000원
dGTP	TKR	4027	100 μ mol	176,000원
dCTP	TKR	4028	100 μ mol	176,000원
dTTP	TKR	4029	100 μ mol	176,000원
dUTP	TKR	4020	40 μ mol	126,000원

- 농도 100 mM
- 형상 수용액 (나트륨 염), pH7.5~9
- 보존 -20 $^{\circ}$ C

- 순도 98% 이상
- 사용상의 주의
제품 그대로 적절한 buffer에 희석하여 사용할 수 있다.

dNTP Mixture

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
dNTP Mixture	TKR	4030	각 3.2 μ mol/1.28 ml	80,000원

- 농도 각 2.5 mM
- 형상 수용액 (나트륨 염), pH7~9
- 보존 -20 $^{\circ}$ C

- 순도 98% 이상
PCR 반응에 있어서 양호한 증폭이 일어남을 확인하였다.
RNase가 함유되어 있지 않음을 확인하였다.

- 특징
DNA polymerase의 기질로서 사용할 수 있다.
· dATP, dCTP, dGTP, dTTP의 동등한 몰 (mol) 비 혼합액
· PCR 반응 약 100 회분에 상당하며, 희석하지 않고 그대로 사용할 수 있다.
· PCR 반응에 있어서 표준적인 사용량은 반응액 100 μ l 당 8 μ l (최종농도 200 μ M)이다.

Ribonucleoside 5' -Triphosphates

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
ATP	TKR	4041	25 μ mol	132,000원
GTP	TKR	4042	25 μ mol	132,000원
CTP	TKR	4043	25 μ mol	132,000원
UTP	TKR	4044	25 μ mol	130,000원

- 농도 100 mM
- 용액 250 μ l
- 형상 pH7.0
- 보존 -20 $^{\circ}$ C

- 순도 95% 이상
- 특징
본 제품은 RNase free로 RNA의 *in vitro* transcription에 최적이다.

F-c

수식호스

Protease (아미노산 서열 해석)

※ 반응용 버퍼 첨부

Pfu N-acetyl Deblocking Aminopeptidase(Ac-DAP)

MSDS

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pfu N-acetyl Deblocking Aminopeptidase (Ac-DAP)	TKR	7340	50 μ g	257,000원

■첨부 버퍼 조성 (5×)

0.5 mM CoCl₂를 함유하는 250 mM N-ethylmorpholine-acetate (pH8.0) : 1 ml

■보존

- 20℃ (용해 후 4℃에서 보존)
효소, 첨부 버퍼는 해동 후 4℃에서 3개월 안정

■제품설명

Pfu N-Acetyl Deblocking Aminopeptidase (Ac-DAP)는 DAP 단백질과 펩타이드에 millistill기를 함유한 N-말단 수식 아미노기와 그 말단 부위의 아미노산을 순차적으로 유리하는 효소이다. 광범위한 기질에 대해 특이성을 갖고 있으며 N-말단이 수식되어 있어 지금까지 해석이 곤란했던 미량 단백질 N-말단이나 N-말단 부근의 아미노산 서열을 쉽게 해석할 수 있다.

본 제품은 유전자 공학적 기법으로 DAP의 N-말단에 아세틸기를 도입하여 흔히 사용하는 Edman 법으로는 본 효소의 아미노산 서열을 해석할 수 없다. 본 효소는 효소/기질 (E/S 비)=1/2~1/1 정도의 비율로 사용하여도 원하는 단백질과 펩타이드의 서열을 protein sequencer로 쉽고 간단하게 해석할 수 있다.

■유래

Pyrococcus furiosus 유래의 DAP를 유전자 재조합 기술로 효모에서 생산

■반응

단백질, 펩타이드의 N-말단에서 exo형식으로 acyl형 N-말단 수식기와 다음에 연결되어있는 아미노산을 순차적으로 유리한다. X-Pro 결합은 가수분해 하지않고 Co²⁺ 이온에 의해 현저히 활성화 된다.

■활성의 정의

75℃, pH8.0에서 1분간 1 μ mol의 leucine-p-nitroanilide를 분해하는 효소량을 1 U으로 한다.

■Specific Activity

8~10 U/mg Protein

■순도

SDS-PAGE에서 단일밴드

■형상

50 mM N-ethylmorpholine-acetate (pH8.0)에 용해한 후 동결 (농도 : 1 mg/ml)

■사용상 주의

본 효소는 고차구조를 유지하는 단백질에 작용하지 않기 때문에 시료 단백질은 반드시 Carboxymethylation화 등의 화학적 방법으로 변성시킬 필요가 있다. 또 본 효소는 PVDF membrane 위의 단백질에는 작용하지 않는다.

■License Notice : [L10]

F-d

Protease (아미노산 서열 해석)

N 말단 Pyroglutamate의 선택적 제거에

※ 반응용 버퍼 첨부

Pfu Pyroglutamate Aminopeptidase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pfu Pyroglutamate Aminopeptidase	TKR	7334	10 mU (37℃ 활성치)	277,000원

■첨부 버퍼조성 (5×)

50 mM DTT, 5 mM EDTA를 함유하는 250 mM Sodium phosphate buffer (pH7.0) 1 ml

■보존

- 20℃ (용해 후 4℃에서 보존 가능)

■제품설명

초고온성 세균인 *Pyrococcus furiosus* 유래의 초내열성 효소로 고온의 단백질 변성조건에서 N-말단이 pyroglutamate로 blocking된 펩타이드 및 단백질로부터 높은 효율로 pyroglutamate를 유리한다.

■유래

Pyrococcus furiosus; 유전자 재조합 기술로 대장균에서 생산

■반응

N-말단이 pyroglutamate인 펩타이드 및 단백질로부터 pyroglutamate를 유리한다.

■활성의 정의

Pyroglutamate-p-nitroanilide를 template로 하여, pH7.0, 37℃에서 1분 동안 1 μ mol의 p-nitroaniline을 생성하는 효소활성을 1 U으로 한다.

■Specific Activity

15.4 U/ mg protein (37℃에서 측정, 대표시료 분석치)

100 U/ mg protein (75℃에서 측정, 대표시료 분석치)

■형상

동결건조품

■순도

SDS-PAGE에서 순도 90% 이상, 기타 protease의 활성은 나타나지 않는다.

■License Notice : [L10, M33]

Pfu Methionine Aminopeptidase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pfu Methionine Aminopeptidase	TKR	7335	20 mU (37℃ 활성치)	252,000원

■ 보존 -20℃

■ 제품설명

본 효소는 초고온성 세균인 *Pyrococcus furiosus* 유래의 초내열성 효소로 단백질, 펩타이드의 N-말단 methionine 잔기를 유리한다. 특히 유전자 재조합 기술로 발현된 단백질로 N-말단 methionine 잔기의 선택적 제거가 필요한 경우 등에 유용하다.

■ 유래

Pyrococcus furiosus; 유전자 재조합 기술로 대장균에서 생산

■ 반응

N-말단 아미노산이 methionine인 펩타이드 및 단백질로부터 N-말단 methionine 잔기만을 특이적으로 유리한다.

■ 활성의 정의

Met-Pro-Ala-Ala-Gly를 template로 하여 pH7.5, 37℃에서 1 분동안 1 μmol의 Met를 유리하는 효소활성을 1 U으로 한다.

■ Specific Activity

1,0 U/ mg protein (37℃에서 측정, 대표시료 분석치)
10,8 U/ mg protein (75℃에서 측정, 대표시료 분석치)

■ 형상

0,01% Tween 20, 0,1 mM CoCl₂를 함유하는 10 mM Tris-HCl buffer (pH7,5)

■ 순도

SDS-PAGE에서 단일밴드, 그 외의 protease의 활성은 확인되지 않는다.

■ template특이성

Met 다음에 연결된 아미노산이 Ala, Gly, Ser, Thr, Pro, Val 일 경우에만 작용한다.

■ 사용상의 주의

단백질을 시료로 하는 경우 carboxymethylation 등의 화학적 방법의 변성이 필요하다.

■ License Notice : [L10]

F-d

Protease (아미노산 서열 해석)

Pfu Protease S

MSDS

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pfu Protease S	TKR	7339	500 U	285,000원

■ 보존 4℃

■ 유래

Pyrococcus furiosus protease 유전자를 코딩하는 플라스미드를 갖고 있는 *Bacillus species*

■ 반응

변성단백질 및 미변성단백질의 펩타이드 결합을 가수분해하는 endo형 serine protease. 고도의 내열성과 뛰어난 변성제 내성을 가지며 template특이성이 없다.

■ 활성의 정의

Suc-AAPF-pNA* 를 기질로, 95℃, pH7,0에서 1분동안 1 μmol의 p-nitroaniline을 생성하는 효소활성을 1 U으로 한다.

Suc-AAPF-pNA : N-succinyl Ala-Ala-Pro-Phe p-nitroanilide

■ Specific Activity

9,5 U/mg (95℃ 대표시료 분석치)

■ 형상

25% ethanol을 함유하는 25mM Tris-HCl (pH7,6) 용액

■ 순도

SDS-PAGE에서 단일밴드

■ License Notice : [L10, M36]

N 말단으로 부터 exo형태로 아미노산을 유리하는 초내열성 효소

Pfu Aminopeptidase I

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Pfu Aminopeptidase I	TKR	7336	0,5 mg	151,000원

■ 보존 -20℃ 수송, 4℃ 이하 건조 상태

■ 유래

Pyrococcus furiosus; 유전자 재조합 기술로 대장균에서 생산

■ 반응

단백질의 N-말단으로부터 exo형식으로 아미노산을 유리한다. 넓은 기질특이성을 가지고 있으며 proline의 α-amino기 쪽의 펩타이드 결합은 가수분해하지 못한다. Co²⁺이온에 의해 현저히 활성이 증가된다.

■ 활성의 정의

75℃, pH8,0에서 1 분동안 1 μmol의 Leucine-p-nitroanilide를 분해하는 효소량을 1 U으로 한다.

■ Specific Activity

40,2 U/mg protein
(20 μM Co²⁺ 존재 하 ; 212,1 U/mg protein)

■ 형상

동결건조품 [50 mM Tris-HCl 버퍼 (pH8,0) 용액 0,5 ml 동결건조]

■ 순도

SDS-PAGE에서 단일밴드

■ 사용상의 주의

단백질을 시료로 하는 경우 carboxymethylation 등의 화학적 방법으로 변성이 필요하다. PVDF 막 위의 단백질에는 작용하지 않는다.

■ License Notice : [L10]

Asparaginylendopeptidase

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Asparaginylendopeptidase	TKR	7319	0,2 mU	441,000원

■ **첨부 버퍼 조성 (5×)**

50 mM DTT, 5 mM EDTA를 함유하는 250 mM sodium acetate buffer (pH5,0) 1 ml

■ **보존** - 20℃

■ **유래**

Jack Bean

■ **반응**

단백질과 펩타이드의 아스파라긴 잔기의 카르복실기 쪽의 펩타이드 결합을 특이적으로 절단한다.

■ **활성의 정의**

DNP-Pro-Glu-Ala-Asn-NH₂를 기질로 하여 pH5,0, 37℃에서 1 분 동안 1 μmol의 DNP-Pro-Glu-Ala-Asn을 생성하는 효소활성을 1 U으로 한다.

■ **형상**

50% glycerol, 1 mM DTT, 1 mM EDTA, 0,005% Brij 35를 함유하는 20 mM sodium acetate buffer (pH5,0)

■ **순도**

다른 protease 활성은 나타나지 않음 (SDS-PAGE에서 단일밴드는 아니다.)

■ **사용상의 주의**

단백질을 시료로 하는 경우 carboxymethylation 등의 화학적 방법으로 변성이 필요하다.

■ **License Notice** : [M32]

F-d

Protease (아미노산 서열 해석)

Arginylendopeptidase (Mouse Submandibular Protease)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Arginylendopeptidase	TKR	7308	0,5 mg	239,000원

■ **첨부 버퍼 조성 (5×)**

250 mM sodium phosphate buffer (pH8,0) ; 1 ml

■ **보존** - 20℃

■ **반응**

단백질과 펩타이드의 아르기닌 잔기의 카르복실기 쪽의 펩타이드 결합을 특이적으로 절단한다.

■ **특징**

Mouse 턱밑샘 유래로 Levy 등이 보고한 동질효소 D에 해당한다. 정제효소에 TPCK, TLCK를 처리하였다.

■ **활성의 정의**

Bz-DL-Arg-*p*-nitroanilide (BAPA)를 기질로 하여 pH8,0, 37℃에서 1 분간에 1 μmol의 *p*-nitroaniline을 생성하는 효소활성을 1 U으로 한다.

■ **Specific Activity**

0,8 U/mg protein (대표시료 분석값)

■ **형상**

50% glycerol을 함유하는 5 mM phosphate buffer (pH7,2)

■ **순도**

SDS-PAGE에서 단일밴드

■ **사용상의 주의**

단백질을 시료로 하는 경우 carboxymethylation화 등의 화학적 방법으로 변성이 필요하다.

Endoproteinase Asp-N

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Endoproteinase Asp-N	TKR	7329	2 μg	193,000원

■ **첨부 버퍼 조성 (5×)**

250 mM sodium phosphate buffer (pH8,0) ; 1 ml

■ **보존** - 20℃ 수송, 4℃ 이하 건조상태로 보존

■ **유래**

Pseudomonas fragi 변이주

■ **반응**

단백질과 펩타이드의 아스파라긴 및 시스테인 잔기의 아미노기 쪽 펩타이드 결합을 특이적으로 절단한다. 그러나 S-S 결합에 관련한 시스테인 잔기는 절단할 수 없다.

■ **활성의 정의**

Casein을 기질로 하여 pH8,0, 37℃에서 1 분 동안 280 nm에서의 흡광도를 0,001 증가시키는 효소활성을 1 U으로 한다.

■ **Specific Activity**

20 U/μg 이상

■ **형상**

동결 건조품 [(10 mM Tris-HCl 완충액 (pH7,5) 50 μl를 동결건조)]

■ **순도**

SDS-PAGE에서 확인.

■ **사용상의 주의**

단백질을 시료로 하는 경우 carboxymethylation화 등의 화학적 방법으로 변성이 필요하다.