

Terminal Deoxynucleotidyl Transferase

Code No. 2230A **Size:** **300 U**
Conc.: **14 U/μl**

Supplied Reagents:

5X Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Buffer **1 ml**
0.1% BSA **1 ml**

Description :

Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT) does not need a template for its reaction, and catalyzes the incorporation of deoxynucleotides into the 3'-OH termini of single- or double-stranded DNA.¹⁾ It requires an oligodeoxynucleotide of at least three bases as primer.

Storage Buffer:

60 mM	Potassium Phosphate, pH7.2
150 mM	KCl
1 mM	DTT
50%	Glycerol

Storage: -20°C

Source :

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

Properties :

- Molecular weight: 60,000
- Optimum pH: pH 7.2
- Cofactor:
This product requires divalent ion of Mg²⁺, Mn²⁺ or Co²⁺.
- Substrate specificity:
Nucleotide analogs (5-methyl-dCTP, 6-O-methyl-dGTP etc.) can be used as a substrate. Dideoxythymidine triphosphate and cordycepin triphosphate become terminator.

Unit definition :

One unit is the amount of the enzyme that incorporates 1 nmol of [³H] dATP into acid-insoluble product in 1 hour at 37°C at pH 7.2, with calf thymus DNA that is treated with DNase and heat-denatured (activated calf thymus DNA) as initiator.

Reaction mixture for unit definition:

100 mM	Sodium cacodylate, pH 7.2
8 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
0.024%	bovine serum albumin
160 μg/ml	activated calf thymus DNA
0.5 mM	[³ H] dATP

Quality Control Data :

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Applications:

- Tailing reactions to add complementary homopolymer tails to vectors and cDNA, such as in the Okayama-Berg method.³⁾
- Labelling the 3'-ends of DNA fragments using dNTP or ddNTP.

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

1. 5X TdT Buffer
500 mM HEPES, pH 7.2
40 mM MgCl₂
0.5 mM DTT
2. 0.1% BSA
The supplied buffer has the different composition from that used for unit definition. The supplied buffer has the general composition to be applicable to addition of deoxynucleotide to 3'-OH termin of DNA.

Application example:

Homopolymeric tailing with dGTP

1. Prepare the following reaction mixture.

DNA	4 - 5 pmol (3'-termini)
5X TdT Buffer	10 μl
0.1% BSA	5 μl
dGTP	0.05 - 0.5 mM (final)
TdT	10 - 15 U
<u>Sterile purified water</u>	
Total	50 μl
2. Incubate the mixture at 37°C for 30 min.
3. Add 5 μl of 5 M NaCl and 1 μl of 0.5 M EDTA (pH 8.0).
4. Extract DNA with 50 μl of phenol/chloroform/isoamylalcohol (25 : 24 : 1) and precipitate DNA with chilled ethanol.

Note :

The reaction is affected by the kinds of bases added (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), the kinds of divalent cations in the buffer (Mn²⁺, Co²⁺, Mg²⁺), and the terminal structure of DNA (3'-protruding -OH end, blunt end, 3'-recessed -OH end).²⁾ Thus, it is necessary to find the optimum conditions for each reaction.

The optimal molar ratio of dNTPs and DNA to add 15-40 bases of deoxynucleotides is 20 : 1 with 3'-protruding -OH ends, and 100 : 1 with 3'-recessed -OH ends.

References:

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

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc.

If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6972 or from our website at www.takarabio.com.

Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements.

All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

Terminal Deoxynucleotidyl Transferase

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

添付試薬：

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

●製品説明

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

●形状

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

●保存 - 20°C

●起源

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

●一般的性質

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

●活性の定義

DNase 処理および熱変性した仔牛胸腺 DNA (活性化仔牛胸腺 DNA) をイニシエーターとして用い、37°C、pH7.2 において 1 時間に 1 nmol の [³H] dATP を酸不溶性沈殿物に取り込む酵素活性を 1 U とする。

●活性測定用反応液組成

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

●品質管理データ

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

●用途

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

●添付試薬組成 (保存：-20°C)

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

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

●使用例 (dGTP を用いたホモポリマーの Tailing 反応)

- 次の反応液を調製する。

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

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

●使用上の注意

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

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

●参考文献

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

●注意

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