

Terminale Deoxynukleotidyl Transferase

Terminale Deoxynukleotidyl Transferase

Artikel Nr.	Größe
E1390-01	300 Einheiten
E1390-02	1 500 Einheiten

Definition der Einheit:

Eine Einheit ist die Menge des Enzyms, die erforderlich ist, um 1 nmol dAMP aus dATP auf den 3'-OH Terminus der Oligodesoxyribonukleotid - Initiator-DNA p(dA)₅₀ in 1 Stunde bei 37°C zu übertragen.

Lagerbedingungen:

Lagerung bei -20°C

Terminale Transferase (TdT) ist eine vorlagenunabhängige Polymerase (template independent), die den Einbau von Deoxyribonukleotid-Monophosphaten aus Triphosphaten an den 3'-Hydroxyl-Termini von DNA katalysiert.

Beschreibung:

- Bevorzugte Substrate sind: einzelsträngige DNA, doppelsträngige DNA mit 3'-Hydroxyl-Termini und Oligodeoxynukleotide (wie z.B. Primer) (1).
- Geeignet für die spezifische Markierung von 3'-Termini mit Ribonukleotiden (2).
- Geeignet für die Markierung der 3'-Termini von DNA-Fragmenten mit [³²P] 3'-Deoxynukleosiden (3).
- Baut homopolymere Ketten von Desoxyribonukleotiden an Vektoren oder cDNAs (4,5).

Lagerungspuffer (Storage Buffer):

Lagerungspuffer: 100 mM Tris-HCl (pH 7.2 bei 22°C), 1 mM Dithiothreitol und 50 % [v/v] Glycerin.

Supplement: 25 mM CoCl₂

Co²⁺ steigert die Einbaurate von Pyrimidinen (6) und die Effizienz des Anbaues von Nucleotiden an stumpfe (blunt) und 3' zurückgesetzte DNA-Termini.

Reaktionsbedingungen der Qualitätskontrolle:

40 mM Kalium-Cacodylat (pH 7.2), 8 mM MgCl₂, 8.3 mM Kalium-Phosphat, 0.33 mM ZnSO₄, 10 mg/ml Rinderserum-Albumin, 0.01 mM Oligodeoxynukleotide p(dA)₅₀ und 1 mM [³²P] dATP für 1 Stunde bei 37°C in einem Reaktionsvolumen von 60 µl.

Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease-, Exonuklease-, sowie einzel- und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft.

Literatur:

1. Chang, L.M. und Bollum, F.J. (1971) *J. Biol. Chem.* 246, 909-916.
2. Roychoudhury, R. und Kassel, H. (1971) *Eur. J. Biochem.* 22, 310-320.
3. Tu, C.P.D., und Cohen, S.N. (1980) *Gene* 10, 177-183
4. Roychoudhury, R., Jay, E. und Wu, R. (1976) *Nucleic Acids Res.* 3, 863-877.
5. Deng, G. und Wu, R. (1983) *Methods Enzymol.* 100, 96-116.
6. Sambrook J., Fritsch E.F. und Maniatis T. (1989) *Molecular cloning, 2nd edn.*