



HIV-1 Reverse Transcriptase

Product No. : BAM-05-001

HIV-1 reverse transcriptase is an RNA-dependent DNA polymerase of HIV-1 (AIDS virus), subtype B origin (1). It also has RNaseH activity and is an enzyme indispensable to the reproduction of AIDS virus.

The product is uniquely over-expressed as a recombinant protein in *E. coli* by a patented method and highly purified (2). It is composed of two subunits (molecular weight of 66 kD and 51 kD), same as the enzyme purified from AIDS virus particles (Fig 1).

Specification

Package size : 200 units

Definition of activity: Activity of 1 nanomole intake of dTMP in 10 min is considered 1 unit with poly(rA) and oligo(dT) as template and primer at 37°C.

Conditions of measurement: 50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 10 mM MgCl₂, 50mM KCl, 3 mM DTT, 0.1% Nonidet P-40, 20 µg/ml poly(rA) · oligo(dT)₁₂₋₁₈, 0.5 mM [³H]dTTP, and 10-50 units/ml reverse transcriptase.

Purity: Over 90% by SDS-PAGE (CBB staining)

Protein concentration: 0.37 mg/ml as measured by BCA method

Specific activity: 10,000-20,000 units/mg

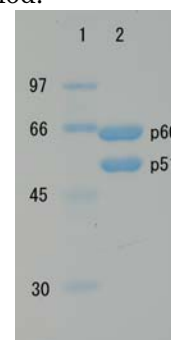
Form: 50% glycerol, 40 mM Tris-HCl (pH8.3), 50 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 0.1% Triton X-100, 10 mM mercaptoethanol

Storage: -20°C

Usage

- 1) It is highly effective for the screening of specific inhibitors for new AIDS treatment (3).
- 2) Generally Gag and Env proteins are employed as antigens for anti-HIV-1 antibody detection. However, more sensitive detection can be obtained by using this enzyme as antigen in combination.
- 3) Reverse transcriptases are used in the first stage of RT-PCR reaction for converting RNA to DNA. The HIV-1 reverse transcriptase can be also applied for RT-PCR method.

Fig. 1 Polyacrylamide gel electrophoresis of HIV-1 reverse transcriptase protein



Reference:

1. Adachi A, et al., J. Virol. 59, 284 (1986)
2. Saito A, et al., Microbiol. Immunol. 34:509-521 (1990)
3. Fischl MA, et al., N. Engl. J. Med. 317,185 (1987)

For research use only; not for use as a diagnostic.



HIV-1 転写酵素

製品番号 : 05-001

200 units

HIV-1 転写酵素は、エイズウイルス HIV-1 由来の RNA 依存性 DNA ポリメラーゼで、RNaseH 活性を併せて持ち、エイズウイルスの増殖に不可欠な酵素である。

本品は、HIV-1 ウイルスゲノム (サブタイプ B (1)) の *pol* 領域にコードされている転写酵素遺伝子をプラスミドにクローニングし、大腸菌で多量に発現させ、クロマトグラフ法などにより高度に精製したものである (2)。エイズウイルス粒子から精製された酵素と同じく、2つのサブユニット(66 kD, 51 kD)により構成されている (図1)。

用途

- 1) エイズ治療薬としての新規の特異的阻害剤のスクリーニングに極めて有効である。
- 2) 抗 HIV-1 抗体の検出には、*gag* や *env* のタンパク質を抗原として用いるのが一般的ではあるが、高感度の検出には、本酵素を併せて用いるのが非常に有効である。
- 3) RNA を鋳型として PCR 反応を行ういわゆる RT-PCR 法の第一段階の反応には、転写酵素が用いられる。HIV-1 転写酵素も RT-PCR 法への応用が可能である。

製品の性質

活性の定義 : poly(rA)・oligo(dT)を鋳型、プライマーとして 37°C、10 分間に 1 nanomole の dTMP を取り込む活性を 1 unit とする。

測定の条件 : 50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 10 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 3 mM DTT, 0.1% Nonidet P-40, 20 µg/ml poly(rA)・oligo(dT)₁₂₋₁₈, 0.5 mM [³H]dTTP, 10-50 units/ml 転写酵素

純度 : SDS-PAGE (CBB 染色) で 90%以上が 転写酵素

濃度 : 0.37 mg/ml (BCA 法で決定)

比活性 : 10,000-20,000 units/mg (タンパク質)

性状 : 50% グリセロール, 40 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 0.1% Triton X-100, 10 mM メルカプトエタノール

保存 : -20°C

文献

1. Adachi A, et al., J. Virol. 59, 284 (1986)
2. Saitoh A, et al., Microbial. Immunol. 34: 509-521 (1990)



図1 ポリアクリルアミドゲルによる HIV-1 転写酵素タンパク質の電気泳動