

Code No.	Form	Quantity	Lot No.	Expiry date
BC24	(Ub)n-lysozyme liquid	100 μ l	FH	07/2007

容量: 100 μ l

保存: -80

安定性: -80 で2年間有効(凍結融解はなるべく避けてください)

調製方法: E1E2E3 mixture(製品コード BC16)を下記実験例に準じてユビキチン化反応を37、90分行い、反応終了後、反応液1mlあたり36 μ lの2規定HClを加える。50mM Tris-HCl緩衝液(pH7.5)で平衡化したDE52セルロースイオン交換体レジンに反応液の1/5量含むtubeに反応液を移し、5分間室温で攪拌混和する。遠心器で14,000rpm,10分間,4遠心し上清を回収し、E1E2E3などをある程度除いたものである

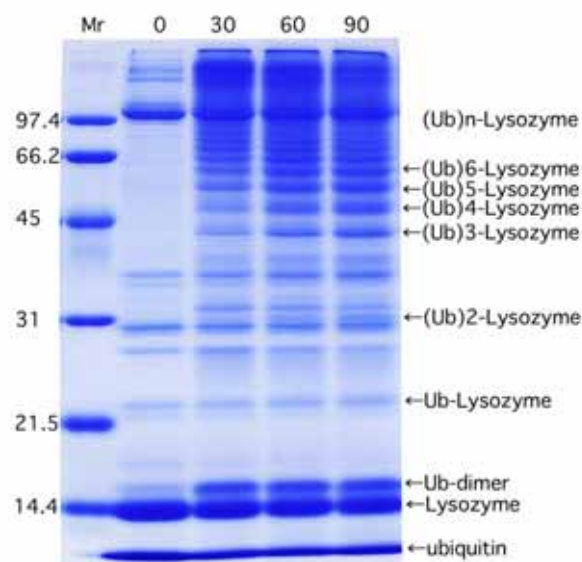
【実験例】

下記の反応液組成にて37 90min incubation し、lysozymeをpoly-ubiquitin化させる

<反応液組成>

10 μ l	1M Tris-HCl(pH9.0)
1.8 μ l	300mM MgCl ₂
1.8 μ l	200mM ATP
0.6 μ l	100mM DTT
1 μ l	200U/ μ l Inorganic Pyrophosphatase
45 μ l	E1,E2,E3 mixture
15 μ l	2mg/ml lysozyme (使用前にboiling処理20minする)
15 μ l	10mg/ml Ubiquitin
9.8 μ l	milliQ 水
計	100 μ l

反応液から30分おきに15 μ l取り出し反応をストップさせ12.5% SDS-PAGEで展開後、CBB染色した結果。



【文献】

1. Hershko,A.,Heller,H.,Elias,S.and Ciechanover,A.J.Biol.Chem.258,8206-8214 (1983)
2. Tamura,T.,Tanaka,K.,Tanahashi,N.Ichihara,A. FEBS.Letters.292,154-158(1991)

株式会社ホクドー バイオサイエンス事業部

札幌市西区八軒9条西10丁目4番28号

TEL:011-641-7507 ; FAX:011-644-9209 ; Email:info@hokudo.co.jp ; URL:www.hokudo.co.jp

