

Thermosensitive Alkaline Phosphatase

使用说明书

货号/规格: E1013-A/300 U; E1013-B/1,000 U; E1013-C/5,000 U

浓度: 1 U/ μ L

产品简介

Thermosensitive Alkaline Phosphatase 是一款热敏感性碱性磷酸酶, 催化 DNA、RNA 和核苷酸中 5' 和 3' 磷酸基团的释放。这种酶还可以去除蛋白质中的磷酸基团。

Thermosensitive Alkaline Phosphatase 是一种新型碱性磷酸酶, 在常用的限制性内切酶缓冲液以及 PCR 缓冲液中均具有活性。它在 37°C 下在 10 分钟内对所有类型的 DNA 末端进行去磷酸化。酶在 75°C 下在 5 分钟内灭活。因此, 在连接前不需要去除碱性磷酸酶。

产品组成

组分	E1013-A	E1013-B	E1013-C
<i>Thermosensitive Alkaline Phosphatase</i> (1 U/ μ L)	300 μ L	1 ml	1 ml \times 5
10X DSAP Buffer	1.25 ml	1.25 ml \times 2	1.25 ml \times 10

储存条件及有效期

保存于 -20°C, 产品有效期为 2 年。

来源

重组 *E. coli* 菌株, 含有从细菌中克隆的碱性磷酸酶基因。

单位定义

1 单位是指在 DSAP Buffer 中, 在 37°C 下 10 分钟内对 1 μ g 线性化 pUC57 DNA 的 5'-末端进行去磷酸化所需的酶量。

适用范围

• 克隆载体 DNA 的去磷酸化, 以防止连接期间的重新环化

- 载体 DNA 的同时酶切和去磷酸化
- PCR 产物纯化: PCR 产物测序前的核苷酸降解
- T4 多聚核苷酸激酶标记前核酸 5'-末端的去磷酸化
- 必须进行 DNA 和 RNA 底物去磷酸化的其他应用
- 蛋白去磷酸化

使用方法

核酸去磷酸化

1. 配制反应体系

Component	Amount
Linear DNA (~3 kb plasmid)	1 μ g (~1 pmol termini)
<i>Thermosensitive Alkaline Phosphatase</i> (1 U/ μ L)	1 μ L
10X DSAP Buffer	2 μ L
ddH ₂ O	To 20 μ L

2. 充分混匀, 37°C 孵育 10 min。

3. 75°C 加热 5 min, 终止反应。

注意事项

1. *Thermosensitive Alkaline Phosphatase* 与 DNA 的结合可能导致琼脂糖凝胶中发生条带位移。为避免发生这种情况, 可使用 6X DNA 上样染料 & SDS 溶液在 65°C 下孵育样品 10 min, 在冰上冷却后进行电泳。

2. *Thermosensitive Alkaline Phosphatase* 在所有限制性酶缓冲液中都有活性, 可直接加入到酶切的 DNA 中。去磷酸化处理前无需热失活限制性酶。

本品仅供科学研究使用。