

Alkaline Phosphatase (*E.coli* C75)

Code No. 2120A

包装量: 50 U
浓度: 0.5 U/ μ l

附带试剂:

10X Alkaline Phosphatase Buffer 1 ml

制品说明:

本酶催化所有磷酸单酯的水解, 不能催化磷酸二酯及磷酸三酯的水解²⁾。
这种酶也能催化ATP等焦磷酸键的水解。

酶贮存溶液:

50 mM	Tris-HCl, pH8.0
100 mM	KCl
1 mM	MgSO ₄
50%	Glycerol

保存: -20°C

起源:

Escherichia coli C75¹⁾。

活性定义:

在 25°C、pH8.0 的条件下, 1 分钟内水解对硝基苯磷酸盐 (p-nitrophenyl phosphate) 生成 1 μ mol 的对硝基苯酚 (p-nitrophenol) 所需的酶量定义为 1 个活性单位(unit)。

活性定义反应液:

1 M	Tris-HCl, pH8.0
1 mM	p-nitrophenyl phosphate

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

使用注意:

本酶是一种稳定性很高、反应需要Zn²⁺。在螯合剂存在的条件下, 100°C加热可暂时性失活, 但由于恢复至室温时酶活性可以恢复, 因此必须进行苯酚处理, 才能使其完全失活³⁾。本酶合适pH在8.0附近, Tris等醇类化合物可使其活性提高。

用途:

- 在用 ³²P 标记 5' -末端之前, 去除 RNA 或 DNA 的 5' -末端的磷酸基。
- 去除载体 DNA 片段的 5' -末端磷酸基, 便于 T4 DNA Ligase 连接反应。

添附Buffer组成 (保存: -20°C) :

10X Alkaline Phosphatase Buffer
500 mM Tris-HCl, pH9.0
10 mM MgCl ₂

本 buffer 与活性定义所用 buffer 不同, 含有 Alkaline Phosphatase (*E.coli* C75) 实验的主要成分。

使用例:

DNA 的去磷酸化反应

在微量离心管中配制下列反应液, 全量定容为 50 μ l。

DNA Fragments in TE Buffer	1-20 pmol
10X Alkaline Phosphatase Buffer	5 μ l
Bacterial Alkaline Phosphatase (0.5 U/ μ l)	1-2 μ l
Sterile purified water	up to 50 μ l

↓
37°C-65°C反应 30 分钟。

↓
苯酚/氯仿/异戊醇 (25: 24: 1) 抽提 2 次。

↓
氯仿/异戊醇 (24: 1) 抽提。

↓
添加 2.5 μ l 的 3 M NaCl (终浓度 150 mM)。

↓
添加 125 μ l 的 (2.5 倍量) 冷乙醇, 在 -20°C 下放置 30-60 分钟。

↓
用 200 μ l 70%冷乙醇洗涤 DNA 沉淀, 并干燥。

↓
用 20 μ l 以下的 TE Buffer 溶解沉淀。

参考文献:

- 1) Nakata A, Yamaguchi M, Izutani K, and Amemura M. *J Bacteriol.* (1978) **134**: 287-294.
- 2) Reid T W and Wilson I B. *The Enzymes.* (1971) **3**: 373-416.
- 3) Maxam A M and Gilbert W. *Methods in Enzymology.* (1980) **65**: 499-560.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品, 或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202107Da