

Alkaline Phosphatase (Calf intestine)

Code No. 2250A

包装量: 1,000 U
浓度: 30 U/ μ l

附带试剂:

10X Alkaline Phosphatase Buffer 1 ml

制品说明:

本酶是由分子量为50,000的单体组成的二聚体, 活性形式为含有Zn²⁺的糖蛋白的金属酶。与大肠杆菌由来的酶同样, 催化所有磷酸单酯的水解, 不能催化磷酸二酯以及磷酸三酯的水解。

酶贮存溶液:

10 mM	Tris-HCl, pH8.0
50 mM	KCl
1 mM	MgCl ₂
0.1 mM	ZnCl ₂
50%	Glycerol

保存: -20°C

起源:

Yeast carrying the plasmid which encodes the gene of calf intestine alkaline phosphatase

活性定义:

在 37°C、pH9.8 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) 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (unit)。

活性定义反应液:

1 mM	diethanolamine, pH9.8
0.5 mM	MgCl ₂
15 mM	<i>p</i> -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:

底物浓度高时, 本酶最适 pH 约为 10; 底物浓度低时, 最适 pH 约为 8, 但特异性比高底物浓度时低。本酶在保存条件下非常稳定, 而在螯合剂存在的条件下, 经 65°C、30 分钟加热处理, 99% 的活性不可逆失活 (根据反应条件不同有时也有例外)。建议失活处理时使用苯酚, 可使酶完全失活。

用途:

去除载体 DNA 片段的 5' -末端的磷酸基团。

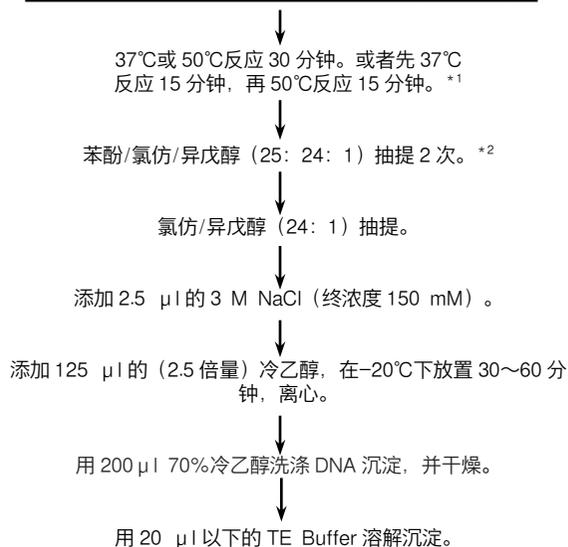
添附Buffer组成 (保存: -20°C) :

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

本 buffer 含有 Alkaline Phosphatase (Calf intestine) 实验所需的主要成分, 与活性定义所用的反应液组成不同。

使用例: DNA 的去磷酸化

在微量离心管中配制下列反应液, 全量定容至 50 μ l。
DNA Fragment in TE Buffer 1~20 pmol
10X Alkaline Phosphatase Buffer 5 μ l
CIAP (30 U/ μ l) 1~2 μ l
灭菌水 up to 50 μ l



- * 1: 单链 DNA 和 5' 突出末端 DNA 在 37°C 即可去磷酸化, 3' 突出末端或平末端处理时需要较高温度。
* 2: 使用苯酚抽提之前, 建议在含有 5 mM EDTA, 0.5% SDS, 50 μ g/ml 蛋白酶 K 的溶液中 56°C 处理 30 分钟以使酶完全失活。在苯酚处理前 75°C 孵育 10 分钟效果更好。

参考文献:

- 1) Morton, R K. *Biochem J.* (1957) **65**: 674-682.
- 2) Chappellet-Tordo D, Fosset M, Iwatsubo M, Gache C, and Lazdunski M. *Biochemistry.* (1974) **13**: 1788-1795.
- 3) Besman M, and Coleman J E. *J Biol Chem.* (1985) **260**: 11190-11193.

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