

T4 多聚核苷酸激酶（3'磷酸酶活性缺失）

货号: R4000

规格: 1000U

保存: -20°C保存, 有效期 2 年, 避免反复冻融。

产品组成:

组分	1000U
T4 Polynucleotide Kinase (10 U/μl)	100 μl
10×T4 PNK Buffer	0.5 ml
10mM ATP	100 μl

活性定义:

1 单位指 37°C条件下, 30 分钟内催化 1nmol 酸不溶性^[32P] 掺入所需要的酶量。

产品说明:

T4 多聚核苷酸激酶 (T4 PNK) 能够催化 ATP 的 γ -位磷酸基团转移到寡核苷酸链 (双链或单链 DNA 或 RNA) 的 5'- 羟基末端以及 3'-单磷酸核苷上。T4 多聚核苷酸激酶还具有 3'磷酸酶活性, 将 3'-磷酸基团从寡核苷酸的 3'磷酸末端、脱氧 3'-单磷酸核苷和脱氧 3'-二磷酸核苷上水解掉。该酶经修饰后, 其 3'磷酸酶活性缺失, 但仍保留了所有激酶的活性。

应用: □

1. DNA 或 RNA 5' 末端的磷酸化, 以便进行连接反应。
2. DNA 或 RNA 的末端标记, 用作探针和进行 DNA 测序。
3. 将 3' 端已经磷酸化的单核苷酸 5' 磷酸化, 制备 pNp 底物, 用于添加到 DNA 或 RNA 的 3' 端。
4. 对 3' 端有磷酸基团的寡核苷酸的 5' 端进行标记。

使用方法:

DNA-5'末端	5-10 pmol
10×T4 PNK Buffer	2.5μl
10 mM ATP	1μl
T4 Polynucleotide Kinase(10 U/μl)	1μl
ddH ₂ O	Up to 25 ul

37°C 孵育 30min。65°C 孵育 20min 进行失活反应。

注意: 1 pmol 的 5'末端 DNA, 相当于 1 μg 的 PCR 产物 (3 kb 大小)。

注意事项：

1. 1×T4 PNK Buffer: 70 mM Tris-HCl pH 7.6, 10 mM MgCl₂, 5 mM DTT。
2. 热失活: 65°C 加热 20 分钟。
3. 在放射性标记实验中, 可用 1× T4 多聚核苷酸激酶反应缓冲液、50 pmol 的 γ -[32P] ATP 和 20 单位的酶 37°C 温育 30 分钟。
4. 一般来说, 进行激酶反应之后是连接反应。在这种情况下, T4 多聚核苷酸激酶反应在连接酶反应缓冲液中 37°C 温育 30 分钟即可。反应后的产物可直接进行连接, 无需改变缓冲液和进行热失活。如果连接时需要保持其它 DNA 片段的去磷酸化状态, 则需要在连接反应前热失活 T4 多聚核苷酸激酶。

注: 本产品仅供研究用, 请勿用于人体及动物的治疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。