

T4 Polynucleotide Kinase

Code No. 2021A

包装量: 1,000 U
浓度: 10 U/μl

附带试剂:

10X T4 Polynucleotide Kinase Buffer 1 ml

制品说明:

本酶具有以下活性:

1. 5' -OH末端寡核苷酸的磷酸化及5' -P末端寡核苷酸的去磷酸化。



2. 磷酸交换反应。



酶贮存溶液:

50 mM Tris-HCl, pH7.5
50 mM KCl
1 mM DTT
0.1 μM ATP
50% Glycerol

保存: -20°C

起源:

Escherichia coli carrying the plasmid encoding T4 pse T gene

活性定义:

以 Micrococcal Nuclease 处理的小牛胸腺 DNA 为底物, 在 37°C, pH7.6 的条件下, 30 分钟内使 1 nmol 的 [γ-³²P]ATP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活性单位(unit)。

活性定义反应液:

50 mM Tris-HCl, pH 7.6
10 mM MgCl₂
1 mM DTT
100 μM [γ-³²P] ATP
0.2 mg/ml 5' -OH DNA

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。

用途:

1. DNA 及 RNA 5' 末端的标记。
2. 合成 DNA 接头 (Linker) 的 5' 末端磷酸化。

特性:

1. 分子量: 约 140,000。
2. 亚基: 四个亚基, 分子量均为 33,000, 活性形式为四聚体。
3. 辅因子: 反应需要 Mg²⁺ 和 SH 试剂如 DTT 的参与。
4. 抑制剂: 7 mM 的磷酸、焦磷酸盐或磷酸钠能够抑制酶 50% 的活性, 7 mM 的硫酸铵抑制酶 75% 的活性。

添附Buffer组成 (保存: -20°C):

10X T4 Polynucleotide Kinase Buffer
500 mM Tris-HCl, pH8.0
100 mM MgCl₂
50 mM DTT

* 本 buffer 与活性定义所用 buffer 成分不同, 含有使单链或双链 5' 突出末端磷酸化反应所需基本成分。

使用例:

磷酸化标记 5' 末端的反应

dephosphorylated oligonucleotide	1-50 pmol
10X T4 DNA Polynucleotide Kinase Buffer	5 μl
111-185 TBq/mmol [γ- ³² P]ATP (3000-5000 Ci/mmol)	0.37-3.7 MBq (10-100 μCi)
T4 Polynucleotide Kinase	5-20 U
灭菌水	up to 50 μl

37°C下反应 30 分钟。

上述方法适用于使用平末端或 3' 突出末端的寡核苷酸, 但标记效率可能比使用单链核苷酸或 5' 末端突出末端的核苷酸低。进行非标记的磷酸化反应时, 请在反应液中加入终浓度 1 mM 的 ATP 来代替 [γ-³²P]ATP。

参考文献:

- 1) Fol W R. in *Gene Amplification and Analysis*. (Chirikjian, J.G. and Papas, T.S. eds.) (1982) 2: 299-311., Elsevier, Amsterdam.
- 2) Midgley C A and Murray N E. *EMBO J.* (1985) 4: 2695-2703.
- 3) Richardson C C. *Procedures in Nucleic Acids Res.* (1971) 2: 815-826.

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, 请联络我们, 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。

v202106Da