Alkaline Phosphatase
（*E.coli* C75）

Code No. 2120A　　包装量：　50 U
　　浓度：　0.5 U/μl

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℃

起　　源：

Escherichia coli C75[1)]。

活性定义：

在 25℃、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 μmol 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Zn^{2+}。在螯合剂存在的条件下，100℃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：

1. 在用 ^{32}P 标记 5'-末端之前，去除 RNA 或 DNA 的 5'-末端的磷酸基。
2. 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℃）：

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，含有用 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 μl。

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

↓

37℃-65℃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 μl 的 3 M NaCl（终浓度 150 mM）。

↓

添加 125 μl 的（2.5 倍量）冷乙醇，在-20℃下放置 30-60 分钟。

↓

用 200 μl 70%冷乙醇洗涤 DNA 沉淀，并干燥。

↓

用 20 μl 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