

公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！

商品属性：

产品名称	规格	货号
T4 多聚核苷酸激酶 (3' 磷酸酶活性缺失)	200U	P-PR1391
T4 多聚核苷酸激酶 (3' 磷酸酶活性缺失)	2000U	P-PR1391

描述： 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：

- DNA 或 RNA 5' 末端的磷酸化，以便进行连接反应。
- DNA 或 RNA 的末端标记，用作探针和进行 DNA测序
- 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
- 对 3' 端有磷酸基团的寡核苷酸的 5' 端进行标记

储存：-20°C可保存 3 年。

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。

使用注意事项：

- (1) 1×T4 多聚核苷酸激酶反应缓冲液：70 mM Tris-HCl pH7.6，10 mM MgCl₂，5 mM DTT，37°C 温育。
- (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) T4 多聚核苷酸激酶需要 ATP 才能发挥活性，但是为了适用于高活力的放射性标记反应，在随酶提供的反应缓冲液中不含 ATP。因此在磷酸化修饰核酸时请单独添加终浓度0.5~1 mM ATP。
- (5) 要提高平齐末端或 5'凹陷末端的磷酸化效率，可在加入 T4 多聚核苷酸激酶前，先将 DNA 溶液于 70°C 加热 5 分钟，然后冰上冷却，并加入 5% (W/V) 的 PEG-8000。
- (6) 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。