

Alkaline Phosphatase (30 U/ μ L), Calf Intestine (CIAP)

小牛肠碱性磷酸酶

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Alkaline Phosphatase (30 U/ μ L), Calf Intestine (CIAP) 小牛肠碱性磷酸酶	10321ES80	1000 U

产品描述

Alkaline Phosphatase, 中文名碱性磷酸酶, 可将 DNA、RNA 的 5'端磷酸基团去除, 常用于阻止载体的自连作用: 在分子克隆实验中, DNA 连接酶催化 DNA 连接时需要磷酸基团的存在, 载体在经酶切后会在切点端保留一个磷酸基团。而载体经碱性磷酸酶去磷酸化后因 5'端无磷酸基团, 因而不可以和自身 3'端连接。因此连接反应中载体本身会优先发生的连接反应被阻止, 提高了目的片段插入率。另外, 碱性磷酸酶还可制备用于 5'端标记的 DNA 模板, 以及用于该酶蛋白的脱磷酸作用等。

本品为小牛肠来源的碱性磷酸酶, 可以降解几乎所有磷酸单酯, 但是该酶不能水解磷酸二酯或磷酸三酯。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格
		10321ES80 (1000 U)
10321-A	Alkaline Phosphatase (30 U/ μ L)	1000 U
10321-B	10 \times AP buffer	1 mL

产品性质

来源 (Source)	携带小牛肠碱性磷酸酶表达质粒的酵母
质量控制 (Quality Control)	无核酸外切酶、核酸内切酶、核糖核酸酶污染
热灭活 (Thermal Inactivation)	在螯合剂存在下, 65 $^{\circ}$ C加热 30 min, 99%活性不可逆丧失; 使用苯酚, 可使酶完全失活。
储存液条件 (Storage conditions)	10 mM Tris-HCl (pH8.0), 1 mM MgCl ₂ , 50 mM KCl, 0.1 mM ZnCl ₂ , 50% glycerol。
活性定义 (Unit definition)	在 pH 9.8, 37 $^{\circ}$ C条件下, 以对硝基苯酚磷酸盐 (<i>p</i> -nitrophenylphosphate) 为底物, 1 分钟生成 1 μ mol 硝基酚(<i>p</i> -nitrophenol)所用的碱性磷酸酶量定义为 1 个活力单位。
最佳 pH (Optimal pH)	该酶在底物浓度高的情况下其最佳反应 pH 为 10, 在底物浓度低时, 最佳 pH 为 8, 此时该酶活性较高浓度底物时稍低。
优化体系 (Optimal Buffer)	AP Buffer (500 mM Tris-HCl pH 9.0, 10 mM MgCl ₂)

运输和保存方法

干冰运输。-20 $^{\circ}$ C保存, 有效期 18 个月。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 本产品仅作科研用途!

使用方法

1. DNA 去磷酸化

① 在 1.5 mL 离心管中加入下列试剂:

组分	体积
无菌 ddH ₂ O	Up to 50 μ L
DNA 片段*	1-20 pmol
Alkaline Phosphatase (30 U/ μ L)	1-2 μ L
10 \times AP buffer	5 μ L

【*】：单链 DNA 或含 5'端突出末端的 DNA 推荐低温下孵育，平末端 DNA 或含 3'突出末端的 DNA 建议在较高温度下孵育。

② 混匀上述试剂，于 37°C或 50°C孵育 30 min。或者 37°C孵育 15 min 后，再于 50°C孵育 15 min。

2. 酚氯仿法抽提 DNA

① 苯酚/氯仿/异戊醇（25:24:1）抽提 2 次。

【注】：推荐在酚提取前将其在含 5 mM EDTA, 0.5% SDS, 50 μ g/mL Proteinase K 的溶液中 56°C孵育 30 min 以彻底灭活碱性磷酸酶。在酚提取前于 75°C孵育 10 min，灭活效果更佳。

② 氯仿/异戊醇（24:1）抽提。

3. 乙醇沉淀 DNA

① 加入 2.5 μ L 3 M NaCl（终浓度 150 mM）。

② 加入 125 μ L（2.5 倍体积）预冷乙醇，混匀后于-20°C放置 30-60 min，沉淀 DNA。

4. 溶解 DNA

离心，彻底去除乙醇后，将 DNA 溶于适量去离子水（<20 μ L）。