



T4 Polynucleotide Kinase

目录号：CW2671S (500 U)
CW2671M (2500 U)

保存条件：-20℃

产品内容

Component	CW2671S	CW2671M
	500 U	2500 U
T4 Polynucleotide Kinase (10U/μl)	50 μl	250 μl
10×T4 PNK Reaction Buffer	150 μl	800 μl

产品简介

T4 Polynucleotide Kinase简称T4 PNK，中文名称T4多聚核苷酸激酶，是由大肠杆菌表达，表达基因的来源为T4嗜菌体，可以催化磷酸在ATP的 γ -位和寡核苷酸链（双链或单链DNA或RNA）的5'-羟基末端以及3'-单磷酸核苷间进行转移和交换，同时还具有3'磷酸酶活性，能将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T4多聚核苷酸激酶可用于寡核苷酸、DNA或RNA的5'末端标记或磷酸化；催化3'磷酸化的单核苷酸5'磷酸化以及去除3'端磷酸基团等。本品于75℃加热10分钟可使其失活，加入EDTA也可使其失活，金属离子整合剂、磷酸盐、铵根离子、大于50 mM的KCl和NaCl均可显著抑制其活性。

活性定义

37℃条件下，30分钟内，将转移ATP上1 nmoly-磷酸基团转移到DNA 5'-OH末端所需的酶量定义为1个活性单位。

质量控制

经过多次柱纯化，SDS-PAGE检测其纯度大于99%；经检测无核酸内、外切酶、磷酸酶和RNA酶活性的污染。

使用方法

DNA 5'末端磷酸化

1. 参考如下表格设置反应体系

试剂	50 μ l 反应体系
待磷酸化DNA	1-20 pmol (5'末端)
10 \times T4 PNK Reaction Buffer	2 μ l
0.1mM ATP	1 μ l
T4 Polynucleotide Kinase (10 U/ μ l)	1 μ l
ddH ₂ O	up to 20 μ l

2. 按上表设置好反应体系后，轻轻混匀后离心沉淀液体。
3. 置于37 $^{\circ}$ C孵育30分钟。
4. 加入1 μ l 0.5 M / pH8.0的EDTA以终止反应。

DNA 5'末端标记

1. 参考如下表格设置反应体系

试剂	50 μ l 反应体系
待磷酸化DNA	1-20 pmol (5'末端)
10 \times T4 PNK Reaction Buffer	2 μ l
[γ - ³² P or γ - ³³ P]-ATP (3,000 Ci/mmol)	20 pmol
T4 Polynucleotide Kinase (10 U/ μ l)	1 μ l
ddH ₂ O	up to 20 μ l

2. 按上表设置好反应体系后，轻轻混匀后离心沉淀液体。
3. 置于37 $^{\circ}$ C孵育30分钟。
4. 加入1 μ l 0.5 M / pH8.0的EDTA以终止反应。

其他用途请自行参考相关文献资料进行。

注意事项

1. 由于铵盐可强烈抑制T4 Polynucleotide Kinase的活性，因此铵盐沉淀所得的DNA不能用于T4 Polynucleotide Kinase的标记反应。
2. PEG可促进磷酸化反应速率和效率，交换反应体系应加入PEG。
3. 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20 $^{\circ}$ C保存。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途