

## T4 多聚核苷酸激酶(3' 磷酸酶活性缺失)

### T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)

Cat. No.: C5002

Store at:-20°C



**描述:** T4 多聚核苷酸激酶(T4 PNK)能够催化 ATP 的  $\gamma$ -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。

#### 组分

名称	500U	2500U
T4 Polynucleotide Kinase (10 U/ $\mu$ l)	50 $\mu$ l	250 $\mu$ l
10xPNKase Buffer	0.2 ml	1 ml
10 mM ATP	100 $\mu$ l	500 $\mu$ l

**活性定义:** 1Unit 指 37°C条件下, 30 分钟内催化 20pmol 的 Oligo DNA 完成磷酸化反应所需要的酶量。

**储存:** -20°C 可保存 3 年。

**储存缓冲液:** 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM DTT, 50%Glycerol, pH7.5。

**1xPNKase Buffer:** 70 mM Tris-OAC pH 7.6, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM DTT。

**热失活:** 65°C 加热 20 分钟。

#### 使用方法:

DNA-5'末端	5-50 pmol
10xPNKase Buffer	2.5 $\mu$ l
10 mM ATP	1 $\mu$ l
T4 Polynucleotide Kinase (10 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	Up to 25 $\mu$ l

37°C 孵育 30min。65°C 孵育 20min 进行失活反应。

#### 使用注意:

(1) 1 pmol 的 5'末端 DNA, 相当于 1  $\mu$ g 的 PCR 产物(3 kb 大小)。

(2) 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。