

Alkaline Phosphatase from Calf Intestine, Molecular Biology Grade

小牛肠碱性磷酸酶 (分子生物学级)

产品信息:

规格:

目录号	产品名称	规格
X11508	Alkaline Phosphatase from Calf Intestine, Molecular Biology Grade 小牛肠碱性磷酸酶 (分子生物学级)	1KU

产品说明:

CAS 号	9001-78-9
保存	-20°C, 有效期至少 1 年
运输	冰袋运输

产品组分:

货号	名称	规格	储存条件
X11508A	碱性磷酸酶 (30U/μl)	1000 U	-20°C
X11508B	10x 碱性磷酸酶缓冲液	1ml	-20°C

使用说明:

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。

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 μL
DNA 片段*	1-20 pmol
Alkaline Phosphatase	1-2 μL
10×AP buffer	5 μL

【*】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) 。

注意事项:

为了您的安全和健康，请穿实验服并带一次性手套操作。

本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。