

## T4 Polynucleotide Kinase

目录号: AE1001

使用前请仔细阅读说明书

### 产品说明

T4 Polynucleotide Kinase 催化 Pi 从 ATP 的 $\gamma$ 位置转移和交换到双链/单链 DNA 和 RNA, 3' 单磷酸核苷的 5' 羟基端。T4 PNK 还催化去除多核苷酸、脱氧核苷 3' 单磷酸和脱氧核苷 3' 二磷酸中的 3' 磷酸基团。T4 PNK 活性形式为四聚体, 分子量约 140 kDa。单个亚基分子量为 33kDa。本公司 T4 Polynucleotide Kinase 是重组表达, 并经多步纯化制备的重组蛋白。

### 活性定义

1 活性单位指在 37°C 下, 1× T4 PNK 反应缓冲体系下, 30 min 内将 1 nmol ATP 上的磷酸基团掺入酸不溶性物质所需的酶量。

### 活性测定条件

1× T4 PNK Buffer: 70 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM DTT(pH 7.6 @ 25°C), 37°C 温育。

浓度: 10U/μl

保存条件: -20°C 可保存 2 年, 避免反复冻融

### 特点与适用范围

- DNA/RNA 的 5'磷酸化, 用于随后的连接
- 末端标记 DNA 或 RNA 用于探针杂交和 DNA 测序
- 去除 3'磷酸基团

### 产品包装规格及组成

Component	AE1001A	AE1001B
T4 Polynucleotide Kinase	500U	2500U
10× T4 Polynucleotide Kinase Buffer	0.3ml	1.5ml

### 质量控制

经过严格的质控检测, 确保该产品具有最高的活性和纯度。

### 酶贮存缓冲液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, 0.1 μM ATP  
pH 7.4 @ 25°C

### 注意事项

- 缺口 (gap) 可以被高浓度 ATP 磷酸化。切口 (nick) 不能被有效地磷酸化。CTP, GTP, TTP, UTP, dATP 或 dTTP 可以替代 ATP 作为磷酸基团供体。
- 交换反应可以避免 5'P 末端去磷酸化, 不过会导致较低的同位素 <sup>32</sup>P 标记比活。
- 反应需要 Mg<sup>2+</sup> 和 SH 试剂如 DTT 等辅因子参与。
- 7 mM 的磷酸、焦磷酸盐或磷酸钠抑制酶 50% 的活性, 7 mM 的硫酸铵抑制酶 75% 的活性。

### 相关产品

AE1301: T4 DNA ligase

## 应用实例

### 1. 引物或 PCR 产物磷酸化

#### 1) 按下表配制反应体系

反应组分	ul
10× Buffer	5
ATP (50mM)	0.5-1
待磷酸化引物 (100uM) 或 PCR 产物 (100ng/ul)	20
T4 Polynucleotide Kinase (10U/μl)	2
H <sub>2</sub> O	Variable
总体积	50

2) 37℃×30-60 min 反应，

3) 65℃×20min 失活酶

后续应用实验包括：

1) 磷酸化引物进行 PCR 扩增，制备 5'磷酸化修饰的 PCR 产物

2) 磷酸化 PCR 产物进行 DNA 连接反应等

**警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。**