

产品说明

热敏碱性磷酸酶（Thermolabile Alkaline Phosphatase）催化磷酸单酯的水解，但不能催化磷酸二酯以及磷酸三酯的水解。本酶来源于嗜冷细菌，在 25-50°C 范围内活性均较高。由于来自于嗜冷细菌，因此热稳定性非常低，通过 65°C 热处理 15 分钟，或 70 度热处理 5 分钟，可使本酶不可逆失活。

本公司热敏碱性磷酸酶是重组表达，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 条件下，30 分钟能使 1 μ g 经 HindIII（产生 5' 突出末端）、EcoRV（产生平齐末端）或 PstI（产生 5' 凹陷末端）消化的 pUC19 DNA 去磷酸化所需的酶量。去磷酸化标准是指在自连接反应中能抑制 > 95% 的 DNA 再环化（通过连接产物转化 *E. coli* 感受态细胞来检测）。

活性测定条件

活性测定反应液组成：50 mM Bis-Tris-Propane-HCl，1 mM MgCl₂，0.1 mM ZnCl₂（pH 6.0 @ 25°C）。

浓度：5U/ μ l

保存条件：-20°C 可保存 2 年，避免反复冻融

特点

- 25-50°C 范围内活性都比较高
- 热敏感性高，65°C 加热 15 分钟，或 70 度加热 5 分钟完全失活

适用范围

- 去除 DNA 分子的 5' 磷酸基团
- 与 Exonuclease I 合用，对 PCR 产物进行测序前处理。

产品包装规格及组成

Component	AE1802A	AE1802B
热敏碱性磷酸酶	500U	2500U
5 \times 热敏碱性磷酸酶 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

50 mM Tris-HCl，100 mM KCl，1 mM MgSO₄，50% Glycerol，pH8.0

注意事项

- 5 units 的本酶和 1 μ g 的 λ DNA-Hind III 片段在 37°C、pH7.5 的条件下反应 1 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。
- 5 units 的本酶和 1 μ g 的 16S，23S rRNA 在 37°C、pH7.5 的条件下反应 1 小时，RNA 的电泳谱带不发生变化。

使用实例：

1、DNA 的 5'末端去磷酸化反应

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10× Buffer	2ul
底物 (5' 磷酸化 DNA)	0.1-5ug
热敏碱性磷酸酶 (5U/μl)	1-2ul
H ₂ O	Variable
总体积	20ul

2) 30-45℃ × 15-60min 反应，

3) 65℃ × 15min 或 70℃ × 5min 失活酶，

4) 利用 PCR 产物纯化柱，纯化处理的 DNA 片段，或按实验目的进行后续操作。

2、PCR 产物测序前的处理。

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
PCR 扩增后的反应液	16ul
热敏碱性磷酸酶 (5U/μl)	1ul
Exonuclease I (20 U/μl)	0.5ul
灭菌水	7.5ul
总体积	25ul

2) 37℃ × 30min 反应，

3) 70℃ × 15min 失活酶，

4) 分取上述反应液 1μl~2μl，必要时最多 5μl，进行后续的测序反应。

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。