

M5 T4 Polynucleotide Kinase

T4 多聚核苷酸激酶使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 T4 Polynucleotide Kinase	500U	MF311-01
M5 T4 Polynucleotide Kinase	2500U	MF311-05

【储存条件】

长期保存，请置于-20°C，有效期 24 个月。经常使用，可置于 4°C 保存至少六个月。

【产品简介】

T4 Polynucleotide Kinase, 简称 T4 PNK, 中文名称 T4 多聚核苷酸激酶, 是一种多聚核苷酸 5'羟基激酶, 可以催化 ATP 的 γ 位磷酸基团向单链或双链 DNA、RNA、寡核苷酸或带有 3'磷酸基团的单核苷酸的 5'羟基转移。其他 NTP 也可产生相同的反应: $5\text{'-OH} + \text{NTP} \rightarrow 5\text{'-P} + \text{NDP}$ 。上述的磷酸化反应是可逆的。当缺失 ATP 并且存在 ADP 的情况下, T4 Polynucleotide Kinase 可以显示出 5'磷酸酯酶的活性, 催化单链或双链 DNA、RNA、寡核苷酸或带有 3'磷酸基团的单核苷酸的 5'磷酸基团向 ADP 的转移形成 ATP。其他 NTP 也可产生相同的反应: $5\text{'-P} + \text{NDP} \rightarrow 5\text{'-OH} + \text{NTP}$ (最适 pH 为 6.4 左右)。当 ATP 和 ADP 都适量存在时, T4 Polynucleotide Kinase 可以催化单链或双链 DNA、RNA、寡核苷酸或带有 3'磷酸基团的单核苷酸的 5'磷酸基团和 ATP 的 γ 位磷酸基团之间的交换反应。其他 NTP 也可产生相同的反应: $5\text{'-P} + \text{NTP} + \text{NDP} \rightarrow 5\text{'-P} + \text{NDP} + \text{NTP}$ 。T4 Polynucleotide Kinase 同时具有 3'磷酸酯酶活性, 可催化 3'磷酸化的多聚核苷酸的去磷酸化: $3\text{'-P} \rightarrow 3\text{'-OH} + \text{Pi}$ (最适 pH 为 5.9 左右)。T4 Polynucleotide Kinase 的激酶活性在 C-末端附近, 而磷酸酯酶活性在 N-末端附近。

【单位定义】

37°C30 分钟内, 将转移 ATP 上 1 nmol γ -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。

【产品组份】

	MF311-01	MF311-05
M5 T4 Polynucleotide Kinase (10U/ μ l)	50 μ l	250 μ l
10 \times T4 Polynucleotide Kinase Buffer	150 μ l	800 μ l

【质量控制】

酶活性检测条件: 100mM Tris-HCl(pH8.0), 10mM MgCl₂, 5mM DTT, 0.5mM 5'-OH DNA, 0.05mM ATP, 0.1MBq/ml [γ -³³P]-ATP。
 纯度: 不含 DNA 内切酶和外切酶, 不含 RNA 酶。

【使用方法】

A、DNA 5' 末端磷酸化

1. 参考如下表格设置反应体系

试剂	50ul 反应体系
待磷酸化 DNA	1-20pmol (5'末端)
10x T4 Polynucleotide Kinase Buffer	2μl
0.1mM ATP	1μl
M5 T4 Polynucleotide Kinase (10U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	up to 20μl

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°C 孵育 30 分钟。

4. 加入 1μl 0.5M/pH8.0 的 EDTA 以终止反应。

B、DNA 5'末端标记

1. 参考如下表格设置反应体系

试剂	50ul 反应体系
待磷酸化 DNA	1-20pmol (5'末端)
10x T4 Polynucleotide Kinase Buffer	2μl
[r- ³² P or r- ³³ P]-ATP (3,000Ci/mmol)	20pmol
M5 T4 Polynucleotide Kinase (10U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	up to 20μl

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°C 孵育 30 分钟。

4. 加入 1μl 0.5M/pH8.0 的 EDTA 以终止反应。

其他用途请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度和效率，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°C 保存。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。