

Alkaline Phosphatase (fast)

快速碱性磷酸酶

产品编号	产品名称	规格
BL1925A	快速碱性磷酸酶	1000 U

产品简介:

Alkaline Phosphatase (fast) 可催化 DNA、RNA 以及核苷酸 5'端和 3'端磷酸基团的水解，也能够去除蛋白磷酸基团，但不能催化磷酸二脂及磷酸三脂的水解。在 37°C 的条件下作用 10 分钟，该酶即可使所有类型 DNA 的末端去磷酸化。由于该酶在 RapidCut 酶切 Buffer 中具有 100%活性，且失活条件为 80°C 温育 20 分钟，因此与 RapidCut 系列快速内切酶进行“酶切-去磷酸化”反应时，可在同管内完成，大大简化了实验流程。

产品组分:

组分名称	规格
Alkaline Phosphatase (fast) (1 U/μL)	1000 μL
10×AP Buffer	2×1 mL

活性定义:

37°C 条件下，Alkaline Phosphatase 缓冲液环境中，10 min 内能够将 1 μg 线性化 pUC57 DNA 的 5'末端去磷酸化所需要的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

使用方法:

1. 质粒载体线性化与去磷酸化同步反应流程

(1) 在冰上建立以下反应:

组份	使用量
质粒 DNA ^a	1 μg
10× RapidCut Buffer	2 μL
RapidCut 限制性内切酶	1 μL
Alkaline Phosphatase (fast)	1 U(1 μL)
ddH ₂ O	To 20 μL

a. 为了保证去磷酸化的效率，质粒 DNA 应不含 RNA 和基因组 DNA 污染。

(2) 充分混匀并瞬离，37°C 孵育 15~30 min;

注：如果延长温育时间，可能产生星号活性。

(3) 80°C 温育 20 min，以终止反应。

2. 核苷酸去磷酸化的实验流程

该方案适用于去除 DNA 的 3' 和 5' 端磷酸基团。

(1) 于冰上配制如下反应体系:

组份	使用量
线性 DNA	1 μg
10×AP Buffer	2 μL
Alkaline Phosphatase (fast)	1 U(1 μL)
ddH ₂ O	To 20 μL

(2) 充分混匀并瞬离，37°C 孵育 10 min;

(3) 80°C 温育 20 min，以终止反应。

3. 蛋白质去磷酸基团的实验流程

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





(1) 于冰上配制如下反应体系:

组份	使用量
10×AP Buffer	2 μ L
磷酸化蛋白质	2~4 μ g(终浓度 0.1~0.2 mg/mL)
Alkaline Phosphatase (fast)	10 U(10 μ L)
ddH ₂ O	To 20 μ L

(2) 充分混匀并瞬离, 37°C 孵育 1 h;

(3) 添加 EDTA 至 50 mM 的终浓度, 或者添加钒酸钠(Na_3VO_4)至 10mM 的终浓度, 以终止反应。

注: 以上为蛋白质去磷酸基团的反应体系和实验流程的举例, 实验时请根据具体底物类型调整 Alkaline Phosphatase 的使用量以及最佳温育时间。

注意事项:

1. 与 Alkaline Phosphatase 结合的 DNA 在琼脂糖凝胶中可能会出现条带偏移或弥散, 为避免此现象, 可在样品中加入混有 SDS 的 6×Loading Buffer, 先在 80°C 温育 20 min, 冰浴降温后再进行电泳。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存, 2 年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

