

## T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)

产品编号	产品名称	包装
D7100S	T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)	500U
D7100M	T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)	2000U
D7100L	T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)	10000U

### 产品简介:

- 碧云天生产的T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus), 简称T4 PNK (3' phosphatase minus), 即T4多聚核苷酸激酶(3'磷酸酶活性缺失), 是一种多聚核苷酸5'羟基激酶, 可以催化ATP的 $\gamma$ 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。其它NTP也可产生相同的反应:  $5\text{'-OH} + \text{NTP} \rightarrow 5\text{'-P} + \text{NDP}$ 。
- 与T4 Polynucleotide Kinase相比较, T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)缺失了3'磷酸酶活性, 即不能催化3'端磷酸化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 PNK (3' phosphatase minus)特别适用于把OH-DNA/RNA-p催化转变为p-DNA/RNA-p, 或把Np催化转变为pNp。
- 碧云天生产的T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)催化单链DNA 5'端磷酸化的效果请参考图1。

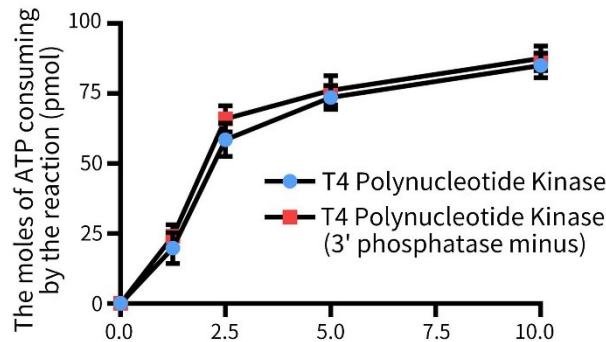


图1. 碧云天生产的T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)催化单链DNA 5'端磷酸化的效果图。使用本产品或本公司的T4 Polynucleotide Kinase, 在50 $\mu$ l反应体系中加入图中指定量的本产品或碧云天的T4 Polynucleotide Kinase, 37 $^{\circ}$ C孵育30分钟进行反应, 65 $^{\circ}$ C孵育20分钟以终止反应。取出20 $\mu$ l反应液, 用增强型ATP检测试剂盒(S0027)检测反应体系中剩余ATP的浓度, 根据反应体系中剩余ATP的浓度计算出反应体系中剩余ATP的量, 根据反应体系中剩余ATP的量和初始加入的总量计算出反应体系中消耗掉的ATP量, 消耗掉的ATP量可以反映T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)和T4 Polynucleotide Kinase的激酶活性。以反应体系中加入的酶量为横坐标, 消耗掉的ATP量为纵坐标作图。如图所示, 本产品与T4 Polynucleotide Kinase (D7096/D7097/D7098)相比, 具有类似的催化单链DNA 5'端磷酸化效果。反应体系(50 $\mu$ l): 70mM Tris-HCl (pH7.6 at 25 $^{\circ}$ C), 10mM MgCl<sub>2</sub>, 5mM DTT, 2 $\mu$ M ATP, 2 $\mu$ M ssDNA, 以及加入1 $\mu$ l不同浓度的T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)和T4 Polynucleotide Kinase。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 碧云天生产的T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)催化3'端磷酸化DNA去磷酸化的效果请参考图2。

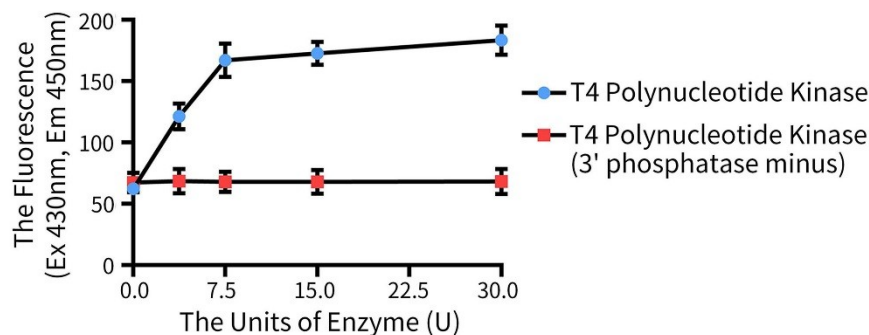


图2. 碧云天生产的T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)催化3'端磷酸化DNA去磷酸化的效果图。使用本产品或碧云天的T4 Polynucleotide Kinase, 在20 $\mu$ l反应体系中加入图中指定量的本产品或碧云天的T4 Polynucleotide Kinase, 37 $^{\circ}$ C孵育30分钟进行反应, 65 $^{\circ}$ C孵育20分钟以终止反应。取出10 $\mu$ l反应液, 用磷酸根荧光检测试剂盒(S0192 Phosphate Sensor Assay Kit)检测反应体系中的荧光信号, 根据荧光信号的强弱可知磷酸根的多少, 荧光信号越显著, 则磷酸根越多, 磷酸根越多, 则

说明T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)和T4 Polynucleotide Kinase具有显著的磷酸酶活性；反之则没有磷酸酶活性。以反应体系中加入的酶量为横坐标，检测到的荧光值为纵坐标作图。如图所示，本产品不具有催化3'端磷酸化DNA去磷酸化的活性，而T4 Polynucleotide Kinase具有催化3'端磷酸化DNA去磷酸化的活性。反应体系(20 $\mu$ l): 70mM Tris-HCl (pH7.6 at 25 $^{\circ}$ C), 10mM MgCl<sub>2</sub>, 5mM DTT, 15 $\mu$ M ssDNA (3'端磷酸化)，以及加入1 $\mu$ l不同浓度的T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)和T4 Polynucleotide Kinase。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **用途：**寡核苷酸、DNA或RNA的5'末端标记；寡核苷酸、DNA或RNA的5'端磷酸化，确保后续连接反应顺利进行；催化3'磷酸化的单核苷酸的5'磷酸化，产生的底物pNp可以和DNA或RNA的3'末端连接；催化3'磷酸化的寡核苷酸的5'末端标记。
- **来源：**由大肠杆菌表达，表达基因的来源为T4嗜菌体T4 Polynucleotide Kinase的突变体。
- **活性定义：**One unit is defined as the amount of enzyme catalyzing the incorporation of 1 nmol of phosphate from ATP to 5'-OH DNA in 30 minutes at 37 $^{\circ}$ C。
- **纯度：**不含DNA内切酶和外切酶，不含RNA酶。
- **酶储存溶液：**10mM Tris-HCl (pH7.4), 50mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1 $\mu$ M ATP, 50% glycerol。
- **T4 PNK Buffer (10X):** 700mM Tris-HCl (pH7.6 at 25 $^{\circ}$ C), 100mM MgCl<sub>2</sub>, 50mM DTT。
- **缓冲液兼容性：**在碧云天的内切酶反应缓冲液1X G、1X O、1X Y、2X Y中的活性为100%，在1X B、1X R中的活性为75-100%；在碧云天的Taq、Pfu DNA polymerase和M-MuLV反应缓冲液中的活性为50-100%。
- **失活或抑制：**75 $^{\circ}$ C加热10min或65 $^{\circ}$ C加热20分钟可使T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)失活，加入EDTA也可使T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)失活。金属离子螯合剂、磷酸盐、铵根离子、大于50mM的KCl和NaCl均可显著抑制T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)的活性。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D7100S-1	T4 PNK (3' phosphatase minus) (10U/ $\mu$ l)	50 $\mu$ l
D7100S-2	T4 PNK Buffer (10X)	150 $\mu$ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7100M-1	T4 PNK (3' phosphatase minus) (10U/ $\mu$ l)	200 $\mu$ l
D7100M-2	T4 PNK Buffer (10X)	500 $\mu$ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7100L-1	T4 PNK (3' phosphatase minus) (10U/ $\mu$ l)	1ml
D7100L-2	T4 PNK Buffer (10X)	2ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

-20 $^{\circ}$ C保存，至少2年有效。

#### 注意事项：

- 铵盐沉淀获得的DNA不能用于T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)的标记反应。铵盐可强烈抑制T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)的酶活性。
- 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 $^{\circ}$ C保存。
- 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，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明：

##### 1. DNA 5'末端标记：

a. 参考如下表格设置反应体系：

Reagent	Volume
DNA to be phosphorylated	1-20pmol
T4 PNK Buffer (10X)	2 $\mu$ l
[ $\gamma$ - <sup>32</sup> P or $\gamma$ - <sup>33</sup> P]-ATP (3,000Ci/mmol)	20pmol
Nuclease-free Water	to 19 $\mu$ l
T4 PNK (3' phosphatase minus) (10U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l

- b. 按上表设置好反应体系后，轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用Vortex在最低速度轻轻混匀)，随后离心沉淀液体。  
c. 37 $^{\circ}$ C孵育30min。

- d. 加入1 $\mu$ l 0.5M EDTA (pH 8.0)混匀, 以终止反应。  
 e. 后续可以使用酚氯仿抽提、乙醇沉淀等方法纯化标记的DNA, 也可以使用适当的DNA纯化试剂盒进行纯化。DNA纯化试剂盒(D0033)可以向碧云天订购。

## 2. DNA 5'末端磷酸化:

- a. 参考如下表格设置反应体系:

Reagent	Volume
DNA to be phosphorylated	1-20pmol
T4 PNK Buffer (10X)	2 $\mu$ l
0.1mM ATP	1 $\mu$ l
Nuclease-free Water	to 19 $\mu$ l
T4 PNK (3' phosphatase minus) (10U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l

- b. 按上表设置好反应体系后, 轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用Vortex在最低速度轻轻混匀), 随后离心沉淀液体。  
 c. 37 $^{\circ}$ C孵育30min。  
 d. 加入1 $\mu$ l 0.5M EDTA (pH 8.0)混匀, 以终止反应。  
 e. 后续可以使用酚氯仿抽提、乙醇沉淀等方法纯化标记的DNA, 也可以使用适当的DNA纯化试剂盒进行纯化。DNA纯化试剂盒(D0033)可以向碧云天订购。

3. 其它用途可以参考上述用途或相关文献资料进行。

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7002	快速DNA连接试剂盒	100次
D7003	快速DNA连接试剂盒	500次
D7006	T4 DNA Ligase	40,000U
D7008	T4 DNA Ligase	200,000U
D7013S	Quick Blunting Kit	20次
D7013M	Quick Blunting Kit	100次
D7012	DNA末端平滑试剂盒	20次
D7035	Klenow Fragment	100U
D7039	Klenow Fragment, Exo-	100U
D7051	T4 DNA Polymerase	50U
D7052S	T4 DNA Polymerase	150U
D7052M	T4 DNA Polymerase	750U
D7052L	T4 DNA Polymerase	3kU
D7096	T4 Polynucleotide Kinase	100U
D7097	T4 Polynucleotide Kinase	500U
D7098S	T4 Polynucleotide Kinase	500U
D7098M	T4 Polynucleotide Kinase	2000U
D7098L	T4 Polynucleotide Kinase	10000U
D7100S	T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)	500U
D7100M	T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)	2000U
D7100L	T4 Polynucleotide Kinase (3' phosphatase minus)	10000U
D7160S	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	10KU
D7160M	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	50KU
D7160L	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	200KU
D7176S	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	10KU
D7176M	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	50KU
D7176L	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	200KU
D7213S	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	200U
D7213M	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7215S	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	200U
D7215M	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7220	BeyoFusion™ DNA Polymerase	200U
D7221	BeyoFusion™ DNA Polymerase	1000U
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U

R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0621S	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	1000U
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	5000U
R0632S	T4 RNA Ligase 2 (dsRNA Ligase)	1000U
R0635S	T4 RNA Ligase 2, truncated	5kU
R0635M	T4 RNA Ligase 2, truncated	20kU
R0635L	T4 RNA Ligase 2, truncated	100kU
R0700S	小RNA 3'接头(5'腺苷化, 3'封闭)及连接试剂盒	20次
R0702S	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	1μg
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	5μg
R0716S	5' DNA Adenylation Kit	10次
R0716M	5' DNA Adenylation Kit	50次
R7090FT	Thermostable RNase H	50U
R7090S	Thermostable RNase H	250U

Version 2022.12.02