

T4 多聚核苷酸激酶 (T4 PNK) T4 Polynucleotide Kinase

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8247	T4 Polynucleotide Kinase T4 多聚核苷酸激酶 (T4 PNK)	500U(10U/μl)

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, 能够催化 ATP 的 γ - 磷酸基团转移到寡核苷酸链 (双链或单链 DNA 或者 RNA) 或 3'-单磷酸核苷上的 5'-羟基末端, 且该反应过程可逆。此外, T4 PNK 还具有 3'磷酸酶活性, 可以将 3'-磷酸基团从寡核苷酸的 3' 磷酸末端、脱氧 3'-单磷酸核苷和脱氧 3'-二磷酸核苷上水解掉。

产品组成:

组分	规格
T4 Polynucleotide Kinase (10 U/μl)	50 μl
10× T4 PNK Buffer	1 ml

保存条件:

-20℃保存, 2 年有效。

产品应用:

- 1.对 DNA 或 RNA 5'末端进行磷酸化, 以便进行连接反应。
2. DNA 或 RNA 的末端标记, 用作探针和进行 DNA 测序。
- 3.除去 3' 磷酸基团。

活性定义:

1 活性单位 (U) 定义为在 1× T4 PNK Buffer 中, 37℃、30 min 内使 1 nmol 的 $[\gamma$ -32P] ATP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量。

蛋白纯度检测:

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性:

37°C下, 在 20 μ l 反应体系中将 10 U T4 Polynucleotide Kinase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 20%的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性:

37°C下, 在 20 μ l 反应体系中将 10 U T4 Polynucleotide Kinase 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性:

37°C下, 在 10 μ l 反应体系中将 10 U T4 Polynucleotide Kinase 与 500 ng RNA 共同温育 1 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 超过 90% 的 RNA 保持完整。

宿主 DNA 残留:

采用中国药典 2020 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法, 本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 1 拷贝/10 U。

使用方法:**1. DNA 5'末端磷酸化:**

试剂	使用量
底物	1~300 pmol (5'末端)
10× T4 PNK Buffer ^a	5 μ l
T4 Polynucleotide Kinase	1 μ l
ATP (10 mM)	5 μ l
ddH ₂ O	Up to 50 μ l

a. 10× T4 PNK Buffer 不含 ATP, 需自行准备。

① 将上述体系充分混匀后, 37°C温育 30 min;

② 反应完成后, 75°C温育 10 min 使 T4 Polynucleotide Kinase 失活。

2. DNA 5' 末端标记:

试剂	使用量
底物	1~50 pmol (5'末端)
10× T4 PNK Buffer ^b	5 µl
T4 Polynucleotide Kinase	2 µl
[γ - ³² P]ATP (10 mM)	0.25 µl
ddH ₂ O	Up to 50 µl

b. 10× T4 PNK Buffer 不含放射性标记的 ATP, 需自行准备。

- ① 将上述体系充分混匀后, 37°C温育 30 min;
- ② 反应完成后, 75°C温育 10 min 使 T4 Polynucleotide Kinase 失活。

注意事项:

1. 金属离子螯合剂、磷酸盐、铵根离子、大于 50 mM 的 KCl 和 NaCl 均可显著抑制 T4 Polynucleotide Kinase 的活性。
2. 聚乙二醇(PEG)和亚精胺可改善磷酸化反应的速率和效率。
3. 提高 ATP 的浓度可让缺口磷酸化。切刻位点不能有效地磷酸化。CTP、GTP、TTP、UTP、dATP 及 dTTP 均可以替代 ATP 作为磷酸供体。
4. T4 Polynucleotide Kinase 使用时宜置于冰上, 使用完毕后立即放置于-20°C保存。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!