

## 碱性磷酸酶说明书

Cat#: 8059011

## 【产品名称】

碱性磷酸酶

## 【包装规格】

| 成品名称  | 成品货号    | 规格         | 组分货号      | 组分名称                    | 组分规格       | 数量  |
|-------|---------|------------|-----------|-------------------------|------------|-----|
| 碱性磷酸酶 | 8059011 | 1000 units | 8059011-1 | 碱性磷酸酶 (1 unit/ $\mu$ L) | 1000 units | 1 支 |
|       |         |            | 8059011-2 | 10 $\times$ AP Buffer   | 1mL        | 2 支 |

## 【产品简介】

碱性磷酸酶可催化 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 SuperCut 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 SuperCut 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。

## 【储运条件】

-25°C~-15°C 保存，有效期 24 个月。

蓝冰运输。

## 【酶活单位定义】

37°C 条件下，碱性磷酸酶缓冲液环境中，10 min 内能够将 1  $\mu$ g 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 (unit)。

## 【质量控制】

## 核酸内切酶残留测试

将酶液与超螺旋 DNA 在 37°C 温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒无变化。

## 核酸外切酶残留测试

将酶液与双链 DNA 底物在 37°C 温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

## 宿主检测

将酶液中残留的核酸经 *E.coli* 16SrDNA 特异性的 TaqMan qPCR 检测，*E.coli* 基因组残留低于 10 拷贝。

## 注意事项

碱性磷酸酶结合的 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 $\times$  Gel Loading Buffer，先在 80°C 温育 20 min，冰浴降温后再进行电泳。

## 【使用方法】

## 1. 质粒载体线性化与去磷酸化同步反应流程；

## ① 于冰上配制如下反应体系

| 试剂                  | 使用量      |
|---------------------|----------|
| 质粒 DNA <sup>a</sup> | 1 µg     |
| SuperCut 10×Buffer  | 2 µL     |
| SuperCut 限制性内切酶     | 2 µL     |
| 碱性磷酸酶               | 1 unit   |
| ddH <sub>2</sub> 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 充分混匀并瞬时离心，37°C温育 15~30min；

**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：

| 试剂                 | 使用量      |
|--------------------|----------|
| 线性 DNA             | 1 µg     |
| 10× AP Buffer      | 2 µL     |
| 碱性磷酸酶              | 1 unit   |
| ddH <sub>2</sub> O | To 20 µL |

② 充分混匀并瞬时离心，22°C温育 1h；

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**

① 于冰上配制如下反应体系：





| 试剂                 | 使用量                        |
|--------------------|----------------------------|
| 磷酸化蛋白质             | 2~4 µg （终浓度 0.1~0.2 mg/mL） |
| 10× AP Buffer      | 2 µL                       |
| 碱性磷酸酶              | 10 units                   |
| ddH <sub>2</sub> O | To 20 µL                   |

② 充分混匀并瞬时离心，22°C温育 1h；

③ 添加 EDTA 至 50 mM 的终浓度，或者添加钒酸钠（Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>）至 10 mM 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碱性磷酸酶的使用量以及最佳温育时间。**

## 【产品标签符号说明】

| 产品标签符号  | 说明     | 产品标签符号  | 说明   |
|---|--------|---|------|
|  | 产品编号   |  | 批号代码 |
|  | 生产日期   |  | 制造商  |
|  | 有效期    |  | 温度极限 |
|  | 查阅使用说明 |  | 避光保存 |

## 【说明书修改日期】

2024.04.24

## 【公司信息】

**生产企业：**北京行健雅生物技术有限公司（该产品由深圳市达科为生物工程有限公司监制）

**网址：**www.dakewe.com

**电话：**010-57794997

**邮箱：**xingjianya@dakewe.net

**地址：**北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 1 号楼 301