

产品概述

T4 Polynucleotide kinase (T4 PNK) 是一种多聚核苷酸 5' -羟基激酶，可催化 ATP 的 γ -磷酸基团转移到核苷酸的 5' -羟基末端，底物包括双链 DNA、单链 DNA、RNA 以及核苷 3' -一磷酸（正向反应）。该反应可逆：在 ADP 存在时，T4 PNK 表现出 5' -磷酸酶活性，催化 5' -磷酸化的寡核苷酸/多核苷酸与 ATP 之间的磷酸基团交换（交换反应）。该酶还具有 3' -磷酸酶活性，可催化水解去除 DNA、RNA 以及脱氧核苷 3' -一磷酸上的 3' -磷酸末端。适用于 DNA 文库的构建以及末端标记制作探针。

试剂组成

组分	BR3P303-56 (1000 U)	BR3P303-58 (2000 U)	BR3P303-61 (5000 U)
T4 Polynucleotide kinase	100 μ L	200 μ L	500 μ L
10×T4 PNK Buffer	200 μ L	400 μ L	1000 μ L

保存条件

-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C 存储。

注意事项

1. 使用前请先混匀。
2. 使用无核酸酶污染的耗材，并对实验区域定期进行清理。
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 $^{\circ}$ C 保存。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅用作科研用途。

使用方法

1. DNA 5'末端磷酸化反应

1.1 参考下表在冰浴上配制如下反应体系：

组分名称	体积 (μ L)	终浓度
T4 Polynucleotide Kinase (10 U/ μ L)	1	0.5 U/ μ L
ATP (10 mM)	2	1 mM
10×T4 PNK Buffer	2	1×
双链 DNA 片段	X	1-20 pM
ddH ₂ O	Up to 20	

注：可根据实验具体情况适当调整各反应试剂的用量。

- 1.2 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。
- 1.3 反应条件：37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
- 1.4 终止反应：72 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟。