

Cloned
Alkaline Phosphatase (CIAP)
(Calf intestine)

使用说明书

Code No. : D2250

包 装:

Alkaline Phosphatase (10~30 U/ μ l)	500	Units
10 $\times$ Alkaline Phosphatase Buffer	1	ml

保 存: -20℃

●制品说明

本酶与大肠杆菌由来的酶同样, 催化所有磷酸单酯的水解, 不能催化磷酸二酯以及磷酸三酯的水解, 对 ATP 等的焦磷酸键水解速度较慢。

●酶贮存溶液

Tris-HCl (pH8.0)	10	mM
KCl	50	mM
MgCl ₂	1	mM
ZnCl ₂	0.1	mM
Glycerol	50	%

●起 源

Yeast carrying the plasmid which encodes the gene of calf intestine alkaline phosphatase.

●活性定义

在 37℃、pH9.8 的条件下, 1 分钟内水解对硝基苯磷酸盐 (*p*-nitrophenyl phosphate) 生成 1 μ mol 的对硝基苯酚 (*p*-nitrophenol) 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

●纯 度

- 1) 30 U 的本酶和 1 μ g 的 λ DNA-*Hind* III 片段在 37℃下反应 16 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。
- 2) 30 U 的本酶和 1 μ g 的 Closed circular(RFI)pBR322 DNA 在 37℃下反应 1 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。
- 3) 18 U 的本酶和 1 μ g 的 16S, 23S rRNA 在 37℃下反应 16 小时, RNA 的电泳谱带不发生变化。

●用 途

去除载体 DNA 片段的 5' -末端的磷酸基。

●使用注意

CIAP 在保存条件下极其稳定，而在螯合剂存在的条件下，经 65℃、30 分钟加热处理，99%的活性不可逆失活（根据反应条件不同有时也有例外）。建议失活处理时使用苯酚，可使酶完全失活。

●添附 Buffer 组成（保存：-20℃）

10×Alkaline Phosphatase Buffer	
Tris-HCl (pH9.0)	500 mM
MgCl ₂	10 mM

●使用例

Alkaline Phosphatase的去磷酸反应

在微量离心管中配制下列反应液，全量定容至 50 μl。

DNA Fragments in TE Buffer	1~20 pmol
10×Alkaline Phosphatase Buffer	5 μl
CIAP (10~30 U/μl)	1~2 μl
dH ₂ O	up to 50 μl

↓
37℃或 50℃反应 30 分钟。

↓
苯酚/氯仿/异戊醇（25 : 24 : 1）抽提 2 次。

↓
氯仿/异戊醇（24 : 1）抽提 1 次。

↓
添加 5 μl 的 3 M NaOAc。

↓
添加 125 μl 的（2.5 倍量）冷乙醇，在-20℃下保冷 30~60 分钟。

↓
离心分离回收沉淀，用 200 μl 的 70%冷乙醇洗净后，减压干燥。

↓
用 20 μl 以下的 TE Buffer 溶解沉淀。