

## 极耐热多聚核苷酸激酶

### Extreme ThermoStable Polynucleotide Kinase

Cat. No.: C5053

Store at: -20°C



**描述:** 极耐热多聚核苷酸激酶(Extreme ThermoStable Polynucleotide Kinase, ET PNKnase), 为 HaiGene 的创新酶, 其是 T4 PNK 的热稳定同源版本。功能保持与 T4 PNK 一致, 够催化 ATP 的  $\gamma$ -位磷酸基团转移到寡核苷酸链(双链或单链 DNA 或 RNA)的 5'-羟基末端上。该酶极度耐热, 在 95°C 加热 30min 后仍然保持全部活性, 酶工作温度范围 50~95°C, 温度低于 65°C 时酶活力下降较多, 在 75-95°C 条件下具有同等的酶活力。这种独有的特性, 使得含有高度结构、高度复杂的核酸底物, 以及需要极端条件下的实验得以开展。该酶具有 5'磷酸激酶活性, 无 3'-磷酸激酶和磷酸酶活性。

#### 组分

名称	500U	2500U
ET PNKnase (10 U/ $\mu$ l)	50 $\mu$ l	250 $\mu$ l
10 $\times$ PNKnase Buffer	0.2 ml	1 ml
10 mM ATP	100 $\mu$ l	500 $\mu$ l

**活性定义:** 1Unit 指 75°C 条件下, 30 分钟内催化 20pmol 的 Oligo DNA 完成磷酸化反应所需要的酶量。

**储存:** -20°C 可保存 3 年。

**储存缓冲液:** 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM DTT, 50%Glycerol, pH7.5。

**1 $\times$ PNKnae Buffer:** 70 mM Tris-HCl (pH 7.6), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM DTT。

**热失活:** 不可热失活。

#### 使用方法:

DNA-5'末端	5-50 pmol
10 $\times$ PNKnase Buffer	2.5 $\mu$ l
10 mM ATP	1 $\mu$ l
ET PNKnase (10 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	Up to 25 $\mu$ l

75°C 孵育 15~30min。

#### 使用注意:

(1) 1 pmol 的 5'末端 DNA, 相当于 1  $\mu$ g 的 PCR 产物(3 kb 大小)。

(2) 由于该酶工作温度较高, 建议采用具有热盖功能的 PCR 仪进行热反应, 以减少蒸发。

(3) ET PNKnase 对盐敏感, 当 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>浓度 > 100 mM 时酶活力急剧下降, 推荐的盐浓度 0~50 mM。

(4) 需要失活时, 采用 0.2 mg/ml 的蛋白酶 K 进行消化。