



产品组分

组分名称	组分目录号	浓度	规格-1 1,000 U	规格-2 5,000 U
Antarctic Phosphatase	RM21308	5,000 U/mL	200 μ L	1 mL
10X Antarctic Phosphatase Reaction Buffer	RM20152	10X	1.25 mL	2 $\times$ 1.25 mL

产品说明

Antarctic Phosphatase (AnP)是一种不耐热的碱性磷酸酶。其可以对 DNA 和 RNA 的 5' 和 3' 末端进行非特异性去磷酸化作用，也可以水解核糖核苷三磷酸 (NTP) 和脱氧核糖核苷三磷酸 (dNTP)。

AnP 可以用于去除 DNA 和 RNA 的磷酸化末端，以便于用于后续的克隆或探针末端标记。在克隆中，其可对线性化的质粒 DNA 进行去磷酸化，防止自身连接。该酶也作用于 5' 突出端、5' 凹陷端和平末端底物。AnP 可用来降解 PCR 反应中的游离 dNTP，用于制备 DNA 测序或 SNP 分析模板。由于该酶在 80°C 条件下加热 2 min 即可完全且不可逆地失活，因此无需在连接或末端标记前去除该酶。

保存温度

-20°C，避免反复冻融

产品来源

Antarctic Phosphatase 在 *E.coli* 中重组表达并经多步纯化精制而成

活性定义

1 活性单位(U): 37°C, 30 min 可对经限制性内切酶消化产生 5'凹陷末端的 1 μ g pUC19 载体 DNA 进行去磷酸化所需的酶量。

反应条件

1X Antarctic Phosphatase Reaction Buffer, 37°C 反应

1X Antarctic Phosphatase Reaction Buffer组成

50 mM Bis-Tris-Propane-HCl, 1 mM MgCl₂, 0.1 mM ZnCl₂, pH 6.0 @ 25°C

酶储存液

10 mM Tris-HCl, 1 mM MgCl₂, 0.01 mM ZnCl₂, 50 % Glycerol, pH 7.4 @ 25°C

热失活

80°C加热 2 min

操作说明

1. 冰上配置如下反应体系，酶最后添加，轻柔混匀后瞬时离心。

组分	使用量
10X Antarctic Phosphatase Reaction Buffer	2 μ L (1X)
Substrate	to 1 pmol DNA
Antarctic Phosphatase	1 μ L (5 units)
Nuclease-Free-Water	to 20 μ L

2. 37°C反应 30 min。

3. 80°C加热 2 min，终止反应。

4. AnP 可直接加入到限制性内切酶酶切反应体系中或酶切后的反应体系中进行 DNA 5'端 的去磷酸化，但还需添加 1/10 体积的 10X Antarctic Phosphatase Reaction Buffer 用于补充反应所需的 Zn^{2+} 。

5. 在限制性酶切和去磷酸化后，限制性内切酶和 AnP 应同时热失活。如限制性内切酶不能灭活，则需在连接前进行 DNA 纯化。

注意事项

1. 对于需要更精确的结果或部分消化酶解反应，推荐酶与底物的滴定来确定具体投量，也可进行调整温度和反应时间来确定。

2. 添加 1/10 体积的 10X Antarctic Phosphatase Reaction Buffer，将提供酶发挥活性所需的 Zn^{2+} 量。

3. 该酶在 ABuffer A/B/C/S 和 Cut A/B/C/S 中也具有活性，但需要添加 1/10 体积的 10X Antarctic Phosphatase Reaction Buffer，因为该酶需要发挥活性的 Zn^{2+} 。添加一价盐后可提高该酶的活性。

4. 金属螯合剂（如 EDTA）、无机磷酸盐和磷酸盐类似物会抑制该酶活性。另外，添加还原剂如 DTT、 β -ME 也会降低该酶活性。

5. 该酶与大多数碱性磷酸酶一样，具有 Zn^{2+} 和 Mg^{2+} 依赖性。