



Общество с ограниченной ответственностью

«Биолабмикс»

ИНН 5408278957 КПП 540801001

630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,

ул. Инженерная, дом № 28

Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40

E-mail: sales@biolabmix.ru

## Термолabileльная щелочная фосфатаза

Кат. номер E-12005, E-12050

### Описание

Настоящий продукт является рекомбинантным ферментом – щелочной фосфатазой грамотрицательной бактерии *Vibrio splendidus*. Фермент имеет молекулярную массу ~58 кДа и проявляет каталитическую активность в гомодимерной форме [1]. Температурный диапазон работы фермента составляет от 15 до 37°C, однако для пролонгированных реакций рекомендуется использовать 15°C как наиболее оптимальную для стабильности фермента [2]. Термолabileльная щелочная фосфатаза удаляет фосфаты с 5'- и 3'-концов ДНК, РНК и может быть использована вместо антарктической фосфатазы.

Фермент поставляется с двумя буферами: для работы с ДНК и работы с РНК. В случае проведения работ с РНК во избежание ее деградации мы рекомендуем избегать стадии тепловой инактивации фермента.

### Область применения

- Клонирование рестрикционных фрагментов (обработка фрагментов ДНК – перед лигированием).
- Синтез мРНК.

### Источник

Термолabileльная щелочная фосфатаза выделена из штамма *E.coli*, содержащего плазмиду с клонированным геном щелочной фосфатазы грамотрицательной бактерии *Vibrio splendidus*.

### Единицы активности

Одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для гидролиза 1 μмоля пара-нитрофенилфосфата (PNPP) в 0,2 мл реакционной смеси (10 mM Tris-HCl (pH 9.0 при 25°C); 10 mM MgCl<sub>2</sub>; 100 mM NaCl; 1 mM DTT; 10 mM PNPP) за 15 мин при 37°C.

**Концентрация фермента и фасовки:** 5000 е.а./мл.

Каталожный номер	Название	Количество	Объем
E-12005	Термолabileльная	500 е.а.	100 мкл
E-12050	щелочная фосфатаза	5000 е.а.	1000 мкл

### **Буфер хранения**

Фермент находится в растворе следующего состава: 25 мМ Трис (рН 8.0 при 25°С), 2 мМ  $MgCl_2$ , 0,02 мМ  $ZnCl_2$ , 50% глицерин.

### **Контроль качества**

Каждая партия фермента тестируется на специфическую активность фермента, электрофоретическую чистоту в SDS-ПААГ, отсутствие неспецифической нуклеазной активности.

### **10х буфер для работы с ДНК**

**100 мМ Tris-HCl (рН 9.0 при 25°С); 100 мМ  $MgCl_2$ ; 1000 мМ NaCl; 10 мМ DTT** (1 мл 10х буфера поставляется вместе с ферментом).

### **5х буфер для работы с РНК**

**250 мМ Tris-HCl (рН 7.5 при 25°С); 400 мМ  $(NH_4)_2SO_4$ ; 15 мМ  $(CH_3COO)_2Mg$ ; 2мМ ТСЕР и стабилизаторы фермента.**

### **Типичный протокол дефосфорилирования гидролизованных плазмид**

1. Для проведения реакции смешайте в пробирке указанные компоненты:
  - 2 мкл 10х буфера для работы с ДНК;
  - 1 мкг гидролизованной плазмидной ДНК (4–8 т.п.н.);
  - до 19 мкл воды, очищенной от нуклеаз;
  - 1 мкл термолабильной щелочной фосфатазы (5 е. а./мкл.).
2. Инкубируйте реакционную смесь при комнатной температуре в течение часа или 30 минут при 37°С.
3. Для инактивации фермента прогрейте реакционную смесь при 65°С в течение 20 минут.
4. Обработанная плазмидная ДНК может быть использована в дальнейших работах. При необходимости ДНК может быть дополнительно очищена с помощью общеизвестных методов, например, Набором для выделения ДНК и РНК из реакционных смесей (кат. № DR-10, DR-50, DR-250).

**Инактивация фермента:** прогрев при 65°С в течение 20 минут.

### **Условия хранения и транспортировки**

Хранить при температуре –20°С.

Допускается транспортирование при температуре не выше +8°С в течение двух суток.

### **Ссылки**

1. Helland R., Larsen R. L., Ásgeirsson B. The 1.4 Å crystal structure of the large and cold-active *Vibrio* sp. alkaline phosphatase // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Proteins and Proteomics*. – 2009. – Т. 1794. – №. 2. – С. 297–308.
2. Hauksson J. B., Andr sson  . S.,  sgeirsson B. Heat-labile bacterial alkaline phosphatase from a marine *Vibrio* sp // *Enzyme and microbial technology*. – 2000. – Т. 27. – №. 1-2. – С. 66-73.