



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.

Область применения

- Клонирование рестрикционных фрагментов.
- Синтез мРНК. **Внимание!** При работе с РНК рекомендуется использовать буфер с pH 7,0-7,5 и избегать нагрев реакционной смеси (не проводить термическую инактивацию щелочной фосфатазы).

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 0,5 мл реакционной смеси за 15 мин при 25°C, в стандартном реакционном буфере (10 mM Tris-HCl (pH 9.0 при 25°C); 10 mM MgCl₂; 100 mM NaCl; 1 mM DTT, 10 mM PNPP).

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

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

Буфер хранения

Фермент находится в растворе следующего состава: 25 мМ Трис (рН 8.0 при 25°С), 2 мМ MgCl₂, 0,02 мМ ZnCl₂, 50% глицерин.

Контроль качества

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

10x Стандартный реакционный буфер

10 мМ Tris-HCl (рН 9.0 при 25°С); 10 мМ MgCl₂; 100 мМ NaCl; 1 мМ DTT (1 мл 10x буфера поставляется вместе с ферментом).

Типичные протокол дефосфорилирования гидролизованных плазмид.

1. Для проведения реакции смешайте в пробирке указанные компоненты:
 - 2 мкл 10x стандартного реакционного буфера;
 - 1 мкг гидролизованной плазмидной ДНК (4–8 т.п.н.);
 - до 19 мкл воды, очищенной от нуклеаз;
 - 1 мкл (5 е. а.) термолabileйной щелочной фосфатазы.
2. Инкубируйте реакционную смесь при 37°С в течение часа.
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).

Инактивации 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.