

Инструкция по применению



Genta-ALP щелочная фосфатаза термолабильная

Термолабильная щелочная фосфатаза

Версия 1 от 19.01.2023

1. ОПИСАНИЕ

Genta-ALP щелочная фосфатаза термолабильная катализирует отщепление 5'- и 3'-фосфатных групп от ДНК, РНК, олигонуклеотидов, нуклеозидтрифосфатов, а также дефосфорилирование белков. Активна в ПЦР-буфере.

Выделена из штамма *Escherichia coli*, экспрессирующего ген щелочной фосфатазы из микроорганизма *Alteromonas macleodii*.

Оптимальная температура активности фермента – 37°C, термическая инактивация фермента происходит при его нагревании до 80°C в течение 15 минут.

2. СОСТАВ

Компоненты	RP-E-013-S	RP-E-013-L	RP-E-013-X (под заказ)
Genta-ALP щелочная фосфатаза термолабильная, 1 000 ед./мл	0,2 мл	5 x 0,2 мл	XXX мл
10x Genta ALP-буфер	0,5 мл	2 x 1,25 мл	XXX мл

3. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

- Дефосфорилирование векторной ДНК при клонировании
- «Очистка» ПЦР-продуктов перед секвенированием (гидролиз нуклеотидов)
- Дефосфорилирование ДНК, РНК и олигонуклеотидов
- Дефосфорилирование белков

4. БУФЕР ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ РЕАКЦИИ (1X)

10 мМ Трис/HCl (рН 8,0 при 25°C); 5 мМ MgCl₂; 0,1 М KCl; 0,02% Triton X-100; 0,1 мг/мл БСА.



5. БУФЕР ДЛЯ ХРАНЕНИЯ

25 мМ Трис-НСl (рН 7.5 при 25°C); 1 мМ MgCl₂; 0.1 мМ ZnSO₄; 0.1% тритон X-100; 50% глицерин.

6. ПРОТОКОЛ РАБОТЫ.

6.1. ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ДНК

1. Состав реакционной смеси

Компонент	На 20 мкл реакции
ДНК	1 пикомоль 5'- и 3'-концов НК*
10x Genta ALP-буфер	2 мкл
Genta-ALP щелочная фосфатаза, 1 000 ед./мл	1 мкл (1 ед.)
Вода (без нуклеаз)	До 20 мкл

* 1 пикомоль 5'- и 3'-концов НК эквивалентен 1 мкг линейризованной плазмидной ДНК размером 3 килобазы.

2. Проведение реакции: 15-30 минут при 37°C.
3. Остановить реакцию прогревом 15 минут при 80°C.
4. При использовании векторной ДНК возможно одновременное проведение реакции линейризации и дефосфорилирования ДНК. В этом случае следует добавить Genta-ALP щелочную фосфатазу непосредственно в реакционную смесь для линейризации (фермент активен в большинстве буфером для эндонуклеаз рестрикции).

6.2. ОЧИСТКА ПЦР ПРОДУКТОВ ПЕРЕД СЕКВЕНИРОВАНИЕМ

1. Смешать компоненты

Компонент	Количество
ПЦР-продукт	5 мкл
Genta-ExoI экзонуклеаза I, 20 000 ед./мл	0,5 мкл (10 ед.)
Genta-ALP щелочная фосфатаза, 1 000 ед./мл	1 мкл (1 ед.)

2. Инкубировать смесь при 37°C в течение 15 минут для полного гидролиза избыточного количества праймеров и нуклеотидов.
3. Инактивировать ферменты прогревом 15 минут при 80°C.
4. Продукты ПЦР очищены и готовы для использования. Обработанные продукты ПЦР могут храниться при -20°C.



Инструкция
Genta-ALP щелочная фосфатаза

Версия 1
от 19.01.2023
Стр 3

7. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Температура хранения: - 20°C.

Условия транспортировки: в термоконтейнере с хладоэлементами, при температуре от 2°C до 8°C не более 7 суток.

Срок хранения при соблюдении условий хранения и транспортировки: 24 месяца с момента производства.



СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА

✓ **Неспецифическая эндонуклеазная активность**

Инкубация 2 ед. фермента с 0,6 мкг ДНК рBR322 при 37°C в течение 4 часов не приводит к видимому изменению электрофоретической подвижности ДНК (по результатам агарозного гель-электрофореза).

Уважаемый Пользователь!

Благодарим Вас за выбор продукта от АО «ГенТерра»!

Если у Вас есть рекомендации по улучшению данного продукта или пожелания по расширению нашей линейки продукции, мы будем Вам признательны если вы предоставите на обратную связь по адресу info@genterra.ru

