

Instrukcja

Thermo PNK

Termostabilna kinaza polinukleotydowa. Stężenie 10 U/μl.

numer katalogowy	wielkość
1016-50	500 U

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzi w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Opis

Thermo PNK jest rekombinowanym enzymem produkowany przez szczep *E. coli* zawierający plazmidowe DNA z wklonowanym genem kodujący termostabilną kinazę polinukleotydową z *Pyrococcus woesei*.

Enzym jest termostabilny i wykazuje maksymalną aktywność a temp. 70-75 °C. Aktywność jest hamowana w 50%, gdy stężenie jonów soli przekracza 100 mM. Obecność nukleotydów nie wpływa na aktywność enzymu.

Zastosowanie

- katalizuje reakcję fosforylacji końca 5' jedno- i dwuniciowej cząsteczki DNA lub RNA w obecności ATP
- klonowanie DNA - fosforylacja fragmentów DNA
- znakowanie sond DNA i RNA do hybrydyzacji
- fosforylacja starterów do reakcji PCR oraz produktów PCR
- synteza genów na bazie komplementarnych oligonukleotydów

Skład

	1016-50	przechowywanie
Kinaza PNK	500 U (10 U/μl)	-20 °C
10 mM ATP	1 x 200 μl	-20 °C
bufor do Thermo PNK	1 x 1,25 ml	-20 °C
10x bufor reakcyjny Thermo PNK: 100 mM Tris-HCl, pH 8,8, 100 mM KCl, 100 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 25 mM MgCl ₂ , 1% Triton X-100		
woda ultraczysta	1 x 1,5 ml	-20 °C – +25 °C

Proponowany protokół fosforylacji DNA

1. Całkowicie rozmrozić i wymieszać wszystkie komponenty niezbędne do nastawienia reakcji.

	objętość reakcji
składnik	20 μ l
ds DNA lub oligonukleotyd (sonda)	0,2-2 μ g 5 μ M
bufor do Thermo PNK	2 μ l
10 mM ATP	2 μ l
Kinaza PNK	10 U
woda ultraczysta	uzupełnić do 20 μ l

2. Inkubować przez 5-30 min w temp. 70-75 °C.

Uwagi

- Do usunięcia aktywności enzymu Thermo PNK zaleca się użycie zestawów do oczyszczania DNA po reakcjach enzymatycznych z serii Clean-Up (np. # 021-50, 021-250).
- Ufosforylowane fragmenty DNA można oczyszczać po rozdziale elektroforetycznym w żelu agarozowym z użyciem zestawów z serii Gel-Out (np. # 023-50, 023-250).
- Thermo PNK w obecności RNA i DNA ma większe powinowactwo do katalizowania reakcji fosforylacji 5' końca cząsteczki RNA.
- Thermo PNK można używać w jednej reakcji z termostabilnymi ligazami w syntezie genów z komplementarnymi cząsteczkami oligonukleotydów.



A&A BIOTECHNOLOGY

innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 880-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2023-2

