

Poly(A) Polymerase(E.coli)

使用说明书

目录号:

目录编号	包装单位
NS600-01	500U

组分编号	组分名称	储存温度	规格
NS600-1	Poly(A) Polymerase	-20°C	100μL
NS600-2	10x PAP Reaction Buffer	-20°C	500μL

产品储存: 4°C运输; -20°C保存, 12个月有效期。

产品简介: Poly(A) Polymerase, 也称 Poly(A)加尾酶, 来源于大肠杆菌, 以不依赖于模板的方式催化由 ATP 转化成的 AMP 添加到单链 RNA 的 3'末端, 以形成 Poly(A)尾。Poly(A) Polymerase 的加尾效率很高, 可以在 RNA 的 3'末端加入 20~200 个 A 碱基。
主要用途: RNA 末端标记、mRNA 体外合成等。

产品来源: 来源于大肠杆菌由大肠杆菌重组表达。

酶活定义: 在 37°C、pH 8.0 条件下, 10 分钟内使 1nmol AMP 掺入 RNA 末端所需的酶量定义为 1 个酶活单位。

产品浓度: 5U/μL。

产品纯度: SDS-PAGE 检测纯度 >95%; 内源性核酸残留量 <1 pg/μL(qPCR 检测)。

失活或抑制: EDTA 至浓度为 10nM 或 65°C加热 20min 失活。

酶存储 Buffer: 20mM Tris-HCl, 300mM NaCl, 1mM DTT, 1mM EDTA, 0.1% Triton X-100, 50%Glycerol, pH 7.5。

10x PAP Reaction Buffer: 500mM Tris-HCl, 2.5mM NaCl, 100mM MgCl₂, pH 8.0。

操作步骤:

1. 参考下表配置反应体系:

Component	Volume
Poly(A) Polymerase	1ug
10x PAP Reaction Buffer	2μL
10mM ATP	2μL
RNase Inhibitor(40U/μL)	0.5μL
RNA	x μL
Nuclease-free water	To 20μL

2. 将反应体系于 37°C 孵育 30min。加入 EDTA 至终浓度 10mM 或 65°C 加热 20min 以终止反应。

注：用于加尾反应的 RNA 应该进行适当纯化。

注意事项：

1. 涉及 RNA 操作，需要严格按照 RNA 操作的规范进行，避免 RNase 污染，相关试剂和耗材需要经过 DEPC 处理以去除 RNase 或者确保是 RNase-free 的条件。
2. 该酶也可以使用 M-MuLV 逆转录酶反应缓冲液进行反应，反应需要有 Mg^{2+} 等二价阳离子才能发挥活性。
3. RNA 加的 A 尾长度受酶量、ATP 浓度和反应时间等因素影响，不同的实验需要加 A 的量会有所不同，可通过减少反应时间来调整加 A 的长度，该酶在 37°C 反应 30min 时可加约 30 个 A 碱基，1 h 可加约 100 个 A 碱基。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====

