

多腺苷酸聚合酶

Poly(A) Polymerase

Code No.AG12008

包装量: 100 U (5 U/ μ l)**保存温度:** -20°C

产品概述

本产品是将大肠杆菌的 Poly(A) Polymerase 基因序列构建至质粒，并于大肠杆菌中重组表达和纯化获得的重组蛋白。

本产品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。

保存及运输

保存温度: -20°C 保存

运输温度: 干冰运输或者 -20°C 冰袋运输

活性定义

37°C 条件下，10 分钟内将 1 nmol AMP 结合到 RNA 上的酶的量，定义为 1 个活性单位 (U)。

产品组成

Poly(A) Polymerase (5 U/ μ l)	20 μ l
5X Poly(A) Reaction Buffer	1 ml X 3 pcs

注意事项

1. Poly(A) Polymerase 使用时需放置于冰盒内，使用完毕后立即放置于 -20°C 保存。
2. Poly(A) Polymerase 加 Poly(A) 尾的长度范围为 1-200 nt，适当加大酶的用量或延长反应时间，可延长加尾长度。
3. 所有试剂使用前可短暂离心将溶液收集至离心管底部，避免损失。
4. 所有反应混合液需在冰上配制。

应用

1. 在单链 RNA 3' 末端添加 Poly(A) 尾，可提供通用的引物或 Oligo (dT) 亲和纯化的结合位点，便于反转录后的扩增或纯化。
2. 增加 mRNA 在真核细胞中的稳定性，从而提高转染至真核细胞中的 RNA 的翻译效率或显微注射后的翻译效率。
3. 放射性同位素标记的 ATP 标记 RNA 等实验。

实验操作

RNA 的加尾反应^{*1}

1. 按照下表内容配制反应液

组分名称	加入量
RNA ^{*2}	50 ng – 500 ng
5X Poly(A) Reaction Buffer	10 μl
ATP (10 mM)	5 μl
Poly(A) Polymerase (5 U/μl)	1 μl
RNase Inhibitor (40 U/μl) ^{*3}	1.25 μl
RNase free water	Up to 50 μl

*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确保 RNase free。

*2: 用于加尾反应的 RNA 应确保合适的纯度, 并且溶解液推荐 RNase free water (不含 EDTA 和盐分)。

*3: 在反应体系中添加 RNase Inhibitor, 可以提高溶液中 RNA 的稳定性。

2. 在 37°C 下反应 10 min 进行加尾反应。

3. 加入 EDTA 至终浓度为 10 mM, 或在 65°C 下灭活 20 min。

4. 反应产物立即使用, 或保存至 -80°C 条件下。

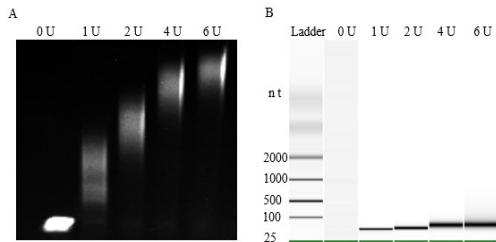
详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.

结果示例

如下图所示, 为不同酶量本产品对单链 RNA 加 Poly(A) 尾效果图:



图A: 凝胶电泳分析本产品对单链 RNA 添加 Poly(A) 尾电泳效果图。
 图B: 使用生物分析仪本产品对单链 RNA 添加 Poly(A) 尾的效果图。
 Ladder: size marker, 0 U、1 U、2 U、4 U、6 U 为添加的不同酶量本产品 Poly(A) Polymerase。