

产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1	规格-2
		100 U	500 U
E. coli Poly(A) Polymerase (5,000 U/mL)	RM20564	20 μ L	100 μ L
10X Poly(A) Polymerase Reaction Buffer	RM20806	1.5 mL	1.5 mL
ATP(10 mM)	RM20159	200 μ L	200 μ L

产品说明

Poly(A) 聚合酶催化由 ATP 转化成的 AMP 添加到 RNA 3' 端, 该反应不依赖模板的存在。

产品来源

大肠杆菌菌株, 携带克隆自大肠杆菌的 Poly(A) 聚合酶基因。

应用场景

用 ATP 或虫草素标记 RNA; 为 RNA 添加 Poly (A) 尾, 用于克隆或亲和纯化;

增加 mRNA 稳定性, 从而提高转染至真核细胞中 RNA 的翻译效率;

活性定义

1 单位指 20 μ L 反应体系中, 37°C 条件下, 10 分钟催化 1 nmol 的 AMP 掺入 RNA 所需要的酶量。

酶存储液

20 mM Tris-HCl, 300 mM NaCl, 1 mM DTT, 1 mM EDTA, 50% Glycerol, 0.1% (w/v) Triton® X-100, pH 7.5 @ 25°C

保存条件

-20°C

热失活

85°C 15 min

操作说明

1. 按下表所示在冰上加入各反应组分 (以 20 μ L 反应体系为例):

组分	加入量
10X E. coli Poly(A) Polymerase Reaction Buffer	2 μ L
ATP (10 mM)	2 μ L
E. coli Poly(A) Polymerase	1 μ L
RNA (1-10 μ g)	10 μ L
ddH ₂ O	To 20 μ L

2. 各反应组分混匀并短暂离心收集溶液到管底。

3. 置于 37°C 反应 30 min。

4. 85°C 加热 15 min 或加入 EDTA 至终浓度为 10 mM 以热失活。

5. 可以加入 RNA 酶抑制剂来增强 RNA 在溶液中的稳定性, 1X 浓度为 1 U/ μ L。