

E. coli Poly(A) Polymerase

产品编号	产品名称	包装
R7070S	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	100U
R7070M	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	500U
R7070L	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	2.5kU
R7070XL	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	10kU

产品简介:

- 碧云天生产的*E. coli* Poly(A) Polymerase, 即*E. coli* Poly(A)聚合酶, 也称*E. coli* PAP、PAP酶、Poly(A)加尾酶或PolyA加尾酶, 能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。*E. coli* Poly(A)聚合酶能以各种单链RNA作为底物RNA, 但双链RNA及过短的寡核苷酸不推荐作为该反应的RNA底物, 并且DNA不能作为该反应的底物。实测15nt合成的RNA完全可以作为*E. coli* Poly(A) Polymerase的底物, 在ATP存在时催化形成Poly(A)尾的。*E. coli* Poly(A) Polymerase催化的Poly(A)加尾反应只能使用ATP, 而不能使用ADP或dATP。另外, 使用CTP和UTP时, 其掺入量不足使用ATP时的5%; 而使用GTP时, 其完全不能添加到RNA的3'末端。
- 碧云天生产的*E. coli* Poly(A) Polymerase对单链RNA加Poly(A)尾的效果参考图1。

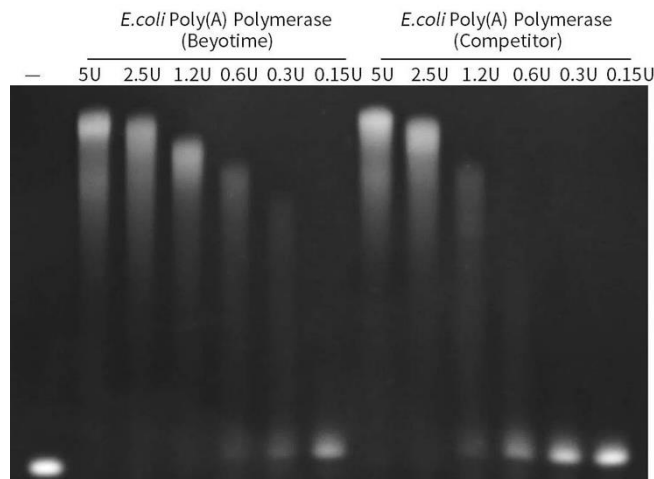


图1. 碧云天生产的*E. coli* Poly(A) Polymerase与同类产品(Competitor)对单链RNA加Poly(A)尾的对比效果图。在20 μ l反应体系(50mM Tris-HCl, pH8.1, 250mM NaCl, 1mM ATP, 10mM MgCl₂)中, 加入人工合成的0.5 μ g 22nt的单链RNA, 以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的*E. coli* Poly(A) Polymerase, 37 $^{\circ}$ C孵育30min, 65 $^{\circ}$ C孵育20min终止反应。取出5 μ l反应后的产物, 加入1 μ l 6X DNA Loading Buffer (D0071), 95 $^{\circ}$ C变性3min, 然后进行含7M Urea的15%聚丙烯酰胺凝胶电泳。室温条件下用1X TBE作为电泳液, 180V电泳90min, NA-Red (D0128) 1:1000稀释后室温染色30min, 然后拍照观察。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的对单链RNA加Poly(A)尾的效果。

- 用途:** 用放射性同位素标记的ATP或虫草素(cordycepin)标记RNA; 为RNA添加Poly(A)尾, 用于反转录后克隆或亲和纯化; 增加mRNA的稳定性, 从而提高转染至真核细胞中的RNA的翻译效率。
- 来源:** 重组*E. coli*菌株, 携带克隆自大肠杆菌的Poly(A)聚合酶基因。
- 活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme that will incorporate 1nmol of AMP into RNA in a 20 μ l volume in 10 minutes at 37 $^{\circ}$ C.
- 纯度:** 不含DNase、RNase和磷酸酯酶。
- 酶储存液:** 20mM Tris-HCl (pH7.5, 25 $^{\circ}$ C), 500mM NaCl, 1mM DTT, 1mM EDTA, 50% (v/v) Glycerol, 0.1% (w/v) Triton X-100.
- 10X Reaction Buffer:** 500mM Tris-HCl (pH8.1, 25 $^{\circ}$ C), 2.5M NaCl, 100mM MgCl₂.
- 失活或抑制:** 加入EDTA至终浓度为10mM, 或65 $^{\circ}$ C加热20min。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R7070S-1	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase (5U/ μ l)	20 μ l
R7070S-2	10X PAP Reaction Buffer	50 μ l

R7070S-3	10mM ATP	50 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7070M-1	<i>E.coli</i> Poly(A) Polymerase (5U/ μ l)	100 μ l
R7070M-2	10X PAP Reaction Buffer	250 μ l
R7070M-3	10mM ATP	250 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7070L-1	<i>E.coli</i> Poly(A) Polymerase (5U/ μ l)	500 μ l
R7070L-2	10X PAP Reaction Buffer	1.25ml
R7070L-3	10mM ATP	1.25ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7070XL-1	<i>E.coli</i> Poly(A) Polymerase (5U/ μ l)	2ml
R7070XL-2	10X PAP Reaction Buffer	5ml
R7070XL-3	10mM ATP	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20 $^{\circ}$ C保存，至少两年有效。

注意事项：

- 10X PAP Reaction Buffer中不包含ATP。
- *E.coli* Poly(A) Polymerase的用量主要影响目的产物的长度，可以根据所需目的产物的长度适当调整酶的用量，如果想得到长度较长的产物可以适当加大酶的用量或延长反应时间。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 参考下表在冰浴中设置反应体系。参考下表20 μ l反应体系中加Poly(A)尾的RNA底物量可以高达10 μ g，并且可根据实验需要按比例放大反应体系。在Poly(A)加尾反应中，加尾的长度取决于RNA 3'-OH末端的摩尔浓度、反应时间、酶量和ATP浓度。可以通过更改一个或多个因素来调整加尾的长度。按照如下的推荐反应体系，在37 $^{\circ}$ C孵育30min，加Poly(A)尾长度可以超过100个碱基。

Reagent	Volume	Final Concentration
DEPC-treated Water	(14.5-x) μ l	-
10X PAP Reaction Buffer	2 μ l	1X
10mM ATP	2 μ l	1mM
RNase Inhibitor (40U/ μ l)	0.5 μ l	1U/ μ l (Optional)
RNA	x μ l	0.05-0.5 μ g/ μ l
<i>E.coli</i> Poly(A) Polymerase (5U/ μ l)	1 μ l	0.25U/ μ l
Total Volume	20 μ l	-

注1：由于涉及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。

注2：用于加尾反应的RNA在使用前应进行适当的纯化，并溶解于nuclease free water中，且溶液中应不含EDTA和盐分。

注3：如果较难确保比较严格的RNase-free，推荐在上述反应体系中添加0.5 μ l RNase Inhibitor (R0102)，以提高溶液中RNA的稳定性。

2. 加尾反应：37 $^{\circ}$ C孵育30min。
3. 反应终止：加入EDTA至终浓度为10mM，或65 $^{\circ}$ C加热20min以终止反应。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U

R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0107	氧钒核糖核苷复合物(RNase抑制剂)	2ml
R0108	氧钒核糖核苷复合物(RNase抑制剂)	10ml
R7075	Poly(A) Polymerase Tailing Kit	50-250次
D7153	BeyoRT™ M-MuLV反转录酶	2000U
D7159	BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)	2000U
D7160S	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	10KU
D7160M	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	50KU
D7160L	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	200KU
D7166	BeyoRT™ cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	10次
D7168S	BeyoRT™ II cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	20次
D7168M	BeyoRT™ II cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	100次
D7168L	BeyoRT™ II cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	500次
D7170S	BeyoRT™ II cDNA合成试剂盒(with gDNA Eraser)	20次
D7170M	BeyoRT™ II cDNA合成试剂盒(with gDNA Eraser)	100次
D7170L	BeyoRT™ II cDNA合成试剂盒(with gDNA Eraser)	500次
D7172	cDNA第二链合成试剂盒	10次
D7176S	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	10KU
D7176M	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	50KU
D7176L	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	200KU
D7178S	BeyoRT™ III cDNA第一链合成试剂盒	20次
D7178M	BeyoRT™ III cDNA第一链合成试剂盒	100次
D7178L	BeyoRT™ III cDNA第一链合成试剂盒	500次

Version 2021.03.04