

产品说明

E. coli Poly(A) 聚合酶以单链 RNA 作为引物，ATP 作为底物进行聚合反应。即能够在没有模板的指导下，将 ATP 以 AMP 的形式添加到 RNA 的 3'端，通常可以在 3'末端加入 20~200 个连续的 AMP，形成俗称的 polyA 尾巴。该 3' polyA 尾巴可增强 mRNA 的稳定性。在本身不带 polyA 尾巴的 RNA（例如 microRNA）的 3'端加上 polyA 尾巴，可以为 cDNA 合成提供 oligo-dT 引物结合位点等。

本公司 E.coli Poly(A) polymerase 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 37°C下，1× Poly(A) Polymerase 反应缓冲体系下，10 min 内将 1 nmol AMP 掺入 16nt 的 ssRNA 所需的酶量。

活性测定条件

50 mM Tris-HCl, 250 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 加入 1 mM ATP, (pH 7.9 @ 25°C), 37°C温育。

浓度：5U/μl

保存条件：-20°C可保存 2 年，避免反复冻融

特点与应用

- RNA 的 3'标记
- microRNA 加 polyA 尾巴，为 cDNA 合成提供 oligo-dT 引物结合位点
- 体外转录 RNA 分子 3' polyA 加尾，增强 RNA 稳定性，提高转染至细胞中 RNA 翻译效率
- 用 5'三磷酸化虫草素（cordycepin 5'-triphosphate）或 ATP 标记 RNA
- 为 RNA 添加 Poly(A)尾，用于克隆或亲和纯化

产品包装规格及组成

Component	AE0901A	AE0901B
E.coli Poly(A) polymerase	100U	500U
10× Poly(A) polymerase Buffer	0.2ml	1.0ml
10 mM ATP	0.2ml	0.2ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶贮存缓冲液

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

注意事项

- 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。
- 热失活：65°C×20 min。
- 可以在反应体系中加入核酸酶抑制剂来防止 RNA 的降解

使用实例：

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10× Buffer	2ul
10mM ATP	2
单链 RNA	Xul,1-10ug
酶(5 U/μl)	1-2ul
H ₂ O	Yul
总体积	20ul

2) 37℃×10min 反应，

3) 65℃×20min 失活酶，

4) 尿素变性 PAGE 电泳检测酶切产物，或按实验目的进行后续操作。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。