

Poly(A) RNA 聚合酶

Poly(A) RNA Polymerase

产品编号	产品名称	包装规格
NBS8254-S	Poly(A) RNA Polymerase Poly(A)	100U(5U/μl)
NBS8254-M	RNA 聚合酶	500U(5U/μl)

产品简介:

Poly(A) Polymerase 是一种来源于大肠杆菌的聚合酶,也称 E.coli PAP、PAP 酶、Poly(A) 加尾酶或 PolyA 加尾酶,经大肠杆菌重组表达后纯化获得。Poly(A) Polymerase 不依赖于模板,催化 ATP 转化为 AMP 并添加至单链 RNA 的 3'端,形成多聚腺苷尾。Poly(A) Polymerase 无法以 DNA 为底物,且不推荐使用双链 RNA 或过短的寡核苷酸 (< 20 nt) 为底物。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。使用 CTP 和 UTP 时,其掺入量不足使用 ATP 的 5%;使用 GTP 时,完全不能添加到 RNA 的 3'末端。

产品组成:

组分	规格 NBS8254-S	规格 NBS8254-M
Poly(A) RNA Polymerase (5 U/μl)	20 μl	100 μl
10× PAP Buffer	1 ml	1 ml
ATP (10 mM)	200 μl	200 μl

保存条件:

-20°C保存, 2 年有效。

适用范围:

1. 在 RNA 末端添加 Poly(A)尾,用于后续克隆或纯化。
2. 提升 mRNA 在真核细胞中的翻译效率。
3. RNA 的 3' 末端标记。

4. cDNA 合成, 为 miRNA 添加 Poly(A)尾后逆转录获得 cDNA。

活性定义:

1 活性单位(U)是指在 20 μ l 反应体系中, 37°C条件下, 10 min 催化 1 nmol 的 AMP 掺入 RNA 所需要的酶量。

蛋白纯度检测:

使用 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性:

37°C下, 在 20 μ l 反应体系中将 5 U Poly(A) Polymerase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 20%的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性:

37°C下, 在 20 μ l 反应体系中将 5 U Poly(A) Polymerase 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性:

37°C下, 在 10 μ l 反应体系中将 5 U Poly(A) Polymerase 与 500 ng RNA 共同温育 1 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 超过 90%的 RNA 保持完整。

宿主 DNA 残留:

采用中国药典 2020 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法, 本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量。

使用方法:

1. 于冰上配制如下反应体系:

试剂	使用量
RNA ^a	1~10 μ g
10 \times PAP Buffer	2 μ l
Poly(A) Polymerase (5 U/ μ l)	1 μ l

ATP (10 mM)	2 μ l
RNase Inhibitor, Murine (40 U/ μ l) (可选)	0.5~1 μ l
Nuclease-Free Water	up to 20 μ l

a. 为避免杂质影响加尾酶活性，应当使用纯化后的 RNA；若 RNA 3'端存在高级结构，建议对 RNA 进行预变性(65°C加热 5 min，冰上放置 5 min)后再进行加尾，避免影响加尾效果。

2. 37°C 孵育 30~60 min。加尾长度受酶量、ATP 浓度、反应时间等多个因素影响，可根据实际反应情况进行体系调整。

3. 按照以上反应体系，加 Poly(A)尾长度可以超过 100 个碱基。

4. 加入 EDTA 至终浓度为 10 mM 或 65°C 孵育 20 min 终止反应。

注意事项：

1. 加尾长度受酶量、ATP 浓度和反应时间等因素影响，一般本酶在 37°C 反应 30 min 可加约 30 个 A 碱基，60 min 可加约 100 个 A 碱基。

2. 该酶将 AMP 添加到 RNA 的 3'末端具有较高的选择性，并不会在所有 RNA 分子中添加相同长度的 Poly (A)。

3. 加尾结束后，在转染细胞或显微注射前，必须对 RNA 进行纯化。

4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

体外转录相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS8250-S</u>	<u>T7 RNA Polymerase T7 RNA 聚合酶</u>	5000U(50U/μl)
<u>NBS8251</u>	<u>T7 RNA Polymerase (HC) T7 RNA 聚合酶 (高浓度)</u>	20000U (200U/μl)
<u>NBS8252-S</u>	<u>High T7 RNA Polymerase 热稳定 T7 RNA 聚合酶</u>	5000U(50U/μl)
<u>NBS8253</u>	<u>T7 High Yield RNA Synthesis Kit T7 高产体外转录试剂盒</u>	50rxns
<u>NBS8254-S</u>	<u>Poly(A) RNA Polymerase Poly(A) RNA 聚合酶</u>	100U(5U/μl)
<u>NBS8255-S</u>	<u>Pyrophosphatase, Inorganic (Yeast) 无机焦磷酸酶 (酵母)</u>	10U(0.1U/μl)