

E. coli Poly (A) Polymerase

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LA101

保存: -20℃保存两年。

浓度: 5000 units/ml

产品说明

本产品由重组 *E. coli* Poly (A) Polymerase 基因的载体, 在大肠杆菌中经诱导表达、纯化而成, 分子量为 50.2 kDa。

E. coli Poly (A) Polymerase 反应时不依赖模板的存在, 催化由 ATP 转化的 AMP 添加到 RNA 的 3'端, 即给 RNA 加 Poly(A) 尾。

特点

不依赖模板的存在给 RNA 3'端加 Poly(A) 尾。

适用范围

加 Poly (A) 尾用于 cDNA 的反转录; 通过修饰的 ATP 或其类似物给 RNA 添加标记。

产品组成

Component	LA101-01	LA101-02
<i>E. coli</i> Poly (A) Polymerase	100 units	500 units
10× <i>E. coli</i> Poly (A) Polymerase Reaction Buffer	80 µl	400 µl
10×DNA Loading Buffer	1 ml	1 ml

活性定义

在 50 µl 反应体系中, 37℃孵育 10 分钟, 将 1 nM AMP 添加到 RNA 所需的酶量。定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

无 DNase、RNase 和磷酸酶污染, 琼脂糖电泳检测无 DNA 或 RNA 残留。

RNase 活性

10 单位酶在 20 µl 反应体系中与 50 ng ssRNA 在 37℃条件下, 孵育 2 小时, <10% 的 ssRNA 被降解。

核酸外切酶活性

50 µl 反应体系中, 10 单位的酶与 1 µg ³H 标记的 DNA (PCR 纯化产物), 在 37℃条件下孵育 4 小时, 释放不超过 1% 的放射性物质。

核酸内切酶活性

50 µl 反应体系中, 10 单位的酶与 1 µg pUC19 在 37℃条件下, 孵育 2 小时, 线性 DNA 的比例不超过 10%。

磷酸酶活性

在 100 µl 含 1 M 二乙醇氨 (pH9.8), 0.5 mM MgCl₂, 2.5 mM 对硝基苯磷酸二钠的体系中, 20 U 的 *E. coli* Poly (A) Polymerase 37℃孵育 4 小时, 测得磷酸酶 <0.001 U。

酶储存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH7.4), 300 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.5 mM EDTA, 0.15% Triton-X100, 50% Glycerol。

10×*E. coli* Poly (A) Polymerase Reaction Buffer

300 mM Tris-HCl (pH7.9), 2.5 M NaCl, 120 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 100 mM ATP。

反应体系 (以 20 µl 为例)

Component	Volume
RNA	≤10 µg
10× <i>E. coli</i> Poly (A) Polymerase Reaction Buffer	2 µl
<i>E. coli</i> Poly (A) Polymerase	0.5-1 µl
RNase-free water	Variable
Total Volume	20 µl



反应条件

37°C 孵育 10-20 分钟；加入 10×DNA Loading Buffer 至终浓度 1× 或者 65°C 加热 20 分钟终止反应。

注意事项

- 2.5-5 units *E. coli* Poly (A) Polymerase 可得到 60-90 nt 的 Poly (A) 产物，请根据目标产物的长度，适当调整酶量。
- *E. coli* Poly (A) Polymerase 用量主要影响目的产物的长度，如果想得到长度较长的产物请适当延长反应时间。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

