

Poly(A) Polymerase Tailing Kit

产品说明书

产品信息

产品名称	Cat#	规格
Poly(A) Polymerase Tailing Kit	K112A01	20 rxns
	K112A02	50 rxns

产品描述

Poly(A) Polymerase Tailing Kit, 即 Poly(A)聚合酶加尾试剂盒, 是一种基于 Poly(A) Polymerase 的活性在 ATP 存在的情况下将 Poly(A)尾快速而有效地添加到单链 RNA 的 3'-OH 末端的试剂盒。Poly(A) Polymerase Tailing Kit 主要用于在 RNA 分子 3'末端添加 ≥ 150 个碱基的 Poly(A)尾。Poly(A)尾的添加可提高 RNA 在真核细胞中的稳定性并增强其在转染或显微注射后的翻译效率。此外, Poly(A)尾还可以为合成 cDNA 时提供通用的引物结合位点, 或用于 RNA 的末端标记或 mRNA 的定量。

用途

提高 mRNA 在真核细胞中的稳定性, 提高转染或显微注射后真核细胞中 RNA 的翻译效率; 在合成 cDNA 第一链时, 提供引物结合位点; 将放射性标记的腺苷添加到 RNA 分子的 3'末端。

产品组分

组分	20 rxns	50 rxns
Poly(A) Polymerase (5U/ μ L)	20 μ L	50 μ L
ATP (10 mM)	40 μ L	100 μ L
RNase inhibitor (40 U/ μ L)	10 μ L	25 μ L
10 $\times$ PAP Reaction Buffer	40 μ L	100 μ L
RNase Free Water	1 mL	1 mL

使用说明

1) 参考下表在冰浴中配制如下反应体系。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或缩小反应体系。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 60min, 加 Poly(A) 尾长度可以超过 150 个碱基。

组分	加量
10 $\times$ PAP Reaction Buffer	2 μ L

ATP (10 mM)	2 μ L
RNase inhibitor (40 U/ μ L)	0.5 μ L (可选)
Poly(A) Polymerase (5 U/ μ L)	1 μ L
RNA	0.5~10 μ g
RNase Free Water	Up to 20 μ L

2) 加尾反应: 37°C 孵育 30-60min。

3) 反应终止: 反应完成后立即 -20°C 保存, 或加入 EDTA 至终浓度为 10mM, 或者使用苯酚/氯仿抽提并使用铵盐/乙醇沉淀 RNA。

4) Poly(A)加尾产物的电泳鉴定: 配制与 RNA 分子大小相对应比例的琼脂糖凝胶。电泳检测时, RNA 样品中宜含有 10mM 或更高浓度的 EDTA, 否则 RNA 较容易出现降解。

运输和储存

-20 $\pm$ 5°C 保存, 有效期为 12 个月。运输条件: $\leq$ 0°C。

注意事项

- ◆ RNA: 在加尾体系使用之前, 应将体外转录反应产生的 RNA 进行纯化并溶解于 RNase-free 水中, 不能将 RNA 溶解在 EDTA 溶液或其他盐溶液中。
- ◆ 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。
- ◆ 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, 以提高溶液中 RNA 的稳定性。
- ◆ 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。