

**描述:** 本 *E. coli* Poly(A) Polymerase 为高效加 A 聚合酶, 该酶以 RNA 为模板在 RNA 的 3' 末端加入 20~200 个 A 碱基。可应用于增强 mRNA 的稳定性, 及 microRNA 加 A 尾, 为 cDNA 合成提供 oligo-dT 引物结合位点等。该酶以单链 RNA 作为引物, ATP 作为底物进行聚合反应。

**组分:**

名称	100U	1000U
<i>E.coli</i> Poly(A) Polymerase(5U/μl)	20 μl	200 μl
10×EPAP Reaction Buffer	500 μl	500 μl
10 mM ATP	100 μl	500 μl
25 mM MnCl <sub>2</sub>	500 μl	500 μl

**活性定义:**

在 37°C、pH7.9 的条件下, 以 ATP 为底物, 10 分钟内把 1 nmol 的 AMP 聚合到 RNA 上所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

**应用:**

- ◆ RNA 3' 标记
- ◆ microRNA 加 A 尾, 为 cDNA 合成提供 oligo-dT 引物结合位点
- ◆ 增强 RNA 稳定性

**储存:**

-20°C 可保存 2 年。

**热失活条件:**

65°C 20 min

**操作方法:**

1. 按以下组分配制反应体系

<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase(5U/μl)	1 μl
10×EPAP Reaction Buffer	2 μl
10 mM ATP	2 μl
25 mM MnCl <sub>2</sub>	2 μl
RNA	0.5~10 μg
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 μl

2. 混合均匀后, 37°C 反应 1 小时。即可用于后续实验。

**注:** 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, 该酶在 37°C 反应 30 分钟时可加 30 个 A 碱基, 1 小时可加 100 个 A 碱基。