

描述: DNA/RNA Adenylatase 为 HaiGene 全新升级的腺苷化酶,该酶能高效的将 ssDNA 或 ssRNA 的 5'磷酸基团腺苷化(该酶是已知的最高效率的腺苷化酶)。通常该酶能将>95%的磷酸化 DNA 转化成腺苷化 DNA (AppDNA)。该酶极度耐热,在 60-95 度下均有活性,高温下的腺苷化反应有利于 DNA/RNA 的链舒展,提升底物的腺苷化比例,并允许一些特殊的实验开展,如 NGS 片段化后的腺苷化反应。

组分

名称	2nmol	20nmol
DNA/RNA Adenylatase (100 pmol/μl)	20 μl	200 μl
10×Adenylatase Buffer	0.5 ml	0.5 ml
10 mM ATP	0.1 ml	0.1 ml

储存: -20°C 可保存 3 年。

注意: (1) 1×Adenylatase Buffer: 15 mM HEPES, 5 mM Mg²⁺, 4 mM DTT, pH 7.5。(2) 该酶不可通过加热失活。

使用方法

1 配制如下反应体系:

磷酸化 ssDNA/RNA	20-100 pmol
10×Adenylatase Buffer	2 μl
10mM ATP	1 μl
DNA/RNA Adenylatase (100 pmol/μl)	2 μl
ddH ₂ O	Up to 20 ul

75°C 孵育 60min。

2 加入 10mM 的 EDTA 进行终止反应。

使用注意事项

(1) 该酶对底物进行腺苷化时,严格控制酶与底物的摩尔比例,酶:底物比例>2,但不宜超过 5,推荐的比例为 2:1。

(2) 反应温度,该酶最佳反应温度为 75-80°C,但在 65-95 度均有活性,在 95°C 下仍然具有>40%的活性。必要时可自行调整。

(3) 该酶依赖 Mg²⁺进行反应,在 2-10mM 条件下均可。

(4) 该酶依赖 ATP 进行反应,在 0.2-0.5mM 条件下均可,必要时可自行调整,在低于 0.1mM 条件下,腺苷化效率将大幅下降,甚至不反应。

(5) 关于底物,该酶对 ssDNA 或 ssRNA 底物均可腺苷化,两者无差异。

(6) 关于反应 pH,由于腺苷化产物在高 pH 条件下不稳定(>8.5),推荐的反应 pH 为 7.0-8.0。

(7) 由于反应温度较高,在小体积实验时,应防止蒸发导致体系变化,可采用矿物油进行封闭处理。

(8) 在低浓度底物的腺苷化反应时,推荐缩小体积,而不是降低反应物的浓度,以获得最高效率的腺苷化。