

Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)

产品编号	产品名称	包装
R7025S	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	10U
R7025M	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	50U
R7025L	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	200U
R7025XL	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	1000U

产品简介:

- 碧云天生产的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast), 中文名为酵母无机焦磷酸酶, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台通过大肠杆菌表达、纯化获得的可用于催化无机焦磷酸盐(Inorganic pyrophosphate, PPI)水解为正磷酸盐(Orthophosphate)的高品质重组酶。
- 多种代谢反应会产生无机焦磷酸, Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)可水解无机焦磷酸盐, 从而可以避免无机焦磷酸对反应的抑制, 促使反应向正向进行, 从而常用于RNA体外转录、DNA复制和扩增如HDA或LAMP等温扩增等产生无机焦磷酸反应体系中促进正向反应, 提高反应产物的产量。
- Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)是一种金属蛋白酶(Metalloprotease), 其催化的反应参考图1。该酶的活性受二价金属离子的影响, Mg²⁺、Zn²⁺、Co²⁺、Mn²⁺、Ca²⁺均可以提高其催化活性, 在Mg²⁺存在的条件下活性最高[1]。

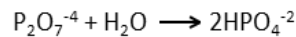


图1. Pyrophosphatase, Inorganic (yeast) (酵母无机焦磷酸酶)催化的PPi + H₂O → 2Pi反应。

- 碧云天生产的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)对焦磷酸钠的水解效果请参考图2。

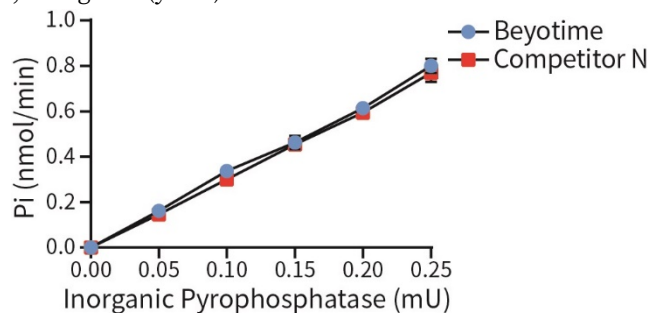


图2. 碧云天生产的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)与国外N公司(Competitor N)的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)对焦磷酸钠的水解效果对比图。利用碧云天焦磷酸酶活性检测试剂盒(P0336)检测焦磷酸钠水解所产生的磷酸。将碧云天与N公司的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast) (0.1U/μl)分别稀释400、500、667、1000、2000倍, 然后配制100μl反应体系: 100mM Tris-HCl (pH7.2), 2mM MgCl₂, 0.1mM焦磷酸钠, 1μl上述不同稀释度的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)或Storage (Dilution) Buffer, 25°C孵育10分钟。样品孵育期间, 将5mM磷酸盐标准品用双蒸水稀释至0、2.5、5、10、20、30、40、50μM。将Malachite Green Reagent A和Malachite Green Reagent B按照体积比2:1混合(现配现用), 即为显色剂。96孔板(FPT011)每孔中加入200μl不同浓度的磷酸盐标准品或样品(100μl反应液+100μl水), 每孔加入70μl显色剂, 用移液器轻轻吹打混匀, 室温静置30分钟, 用酶标仪测定波长630nm的吸光度。根据磷酸盐标准品的浓度和A₆₃₀数值, 绘制标准曲线, 根据标准曲线计算出样品中所产生的磷酸根浓度, 进而计算磷酸根的生成速率。Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)的测活数据来自三次独立重复实验。碧云天生产的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)与N公司的产品相比, 对焦磷酸钠具有基本一致的水解效果。图中数据仅供参考, 不同实验条件下获得的数据会有一些的差异。

- 碧云天生产的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)对体外转录的影响请参考图3。

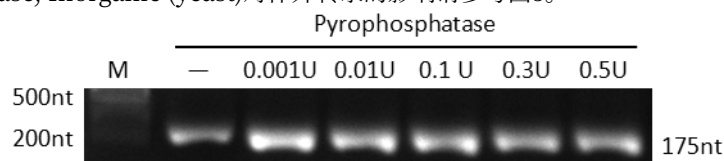


图3. 碧云天生产的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)对体外转录的影响。利用碧云天T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit (R7016)进行RNA体外转录。配制20μl反应体系: 7μl Nuclease-free Water, 1.5μl 10X T7 Reaction Buffer

(终浓度为0.75X), 6 μ l NTP Mix, 2 μ l Template DNA (终浓度为0.05 μ g/ml), 0.5 μ l RNase Inhibitor, 2 μ l T7 RNA Polymerase, 1 μ l Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)或Storage Buffer (酶量为0U, 0.001U, 0.01U, 0.1U, 0.3U, 0.5U)。37 $^{\circ}$ C孵育2.5小时, 然后向反应体系中加入80 μ l Nuclease-free Water和1 μ l DNase I, 混匀后37 $^{\circ}$ C孵育15分钟, 使模板DNA降解。取90 μ l反应液, 与90 μ l Nuclease-free Water和20 μ l 3M NaAC混匀, 再加入200 μ l苯酚/氯仿混合液(苯酚: 氯仿=1:1), 充分混匀, 4 $^{\circ}$ C, 12000rpm离心15分钟。将上清与2.5倍体积的无水乙醇混合, -80 $^{\circ}$ C沉淀过夜, 使RNA析出。4 $^{\circ}$ C, 12000rpm离心20分钟, 弃上清, 用500 μ l 70%乙醇洗涤沉淀一次, 晾干, 使乙醇挥发。用50 μ l Nuclease-free Water溶解沉淀。将15 μ l甲醛、4 μ l loading和2 μ l样品混合, 70 $^{\circ}$ C加热10分钟后进行跑胶。得到的RNA转录产物的长度为175nt。实验发现, 加入Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)后, 转录产物的量约为对照组的2-3倍。

- **用途:** 体外转录反应中, 可提高RNA的合成量[2]; DNA聚合反应中, 防止无机焦磷酸盐积累; 利用焦磷酸盐测定法进行SNP基因分型的试剂中去除焦磷酸污染[3]。
- **来源:** 由大肠杆菌表达, 表达基因为酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的ppa基因。
- **分子量:** 约33kDa。
- **活性定义:** One unit is the amount of enzyme that will generate 1 μ mol of phosphate per minute from inorganic pyrophosphate under standard reaction conditions (a 10 minute reaction at 25 $^{\circ}$ C in 100mM Tris-HCl (pH7.2), 2mM MgCl₂ and 2mM PPI in a reaction volume of 0.5ml)。
- **纯度:** 不含DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶。
- **Storage (Dilution) Buffer:** 20mM Tris-HCl (pH8.0), 100mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% (v/v) glycerol.
- **10X Reaction Buffer:** 1M Tris-HCl (pH7.2), 20mM MgCl₂.
- **失活或抑制:** Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)的活性可以被EDTA强烈抑制; 亚胺二磷酸盐(Imidodiphosphate)、 α,ω -glycol diphosphates、methanedial diphosphate和1,2-ethanedial diphosphate也是Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)的抑制剂。加热不能使该酶完全失活, 可通过柱纯化或酚/氯仿抽提的方法去除Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R7025S-1	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast) (0.1U/ μ l)	100 μ l
R7025S-2	10X Reaction Buffer	100 μ l
R7025S-3	Storage (Dilution) Buffer	1ml
R7025S-4	100mM Na ₄ P ₂ O ₇	100 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7025M-1	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast) (0.1U/ μ l)	500 μ l
R7025M-2	10X Reaction Buffer	500 μ l
R7025M-3	Storage (Dilution) Buffer	5ml
R7025M-4	100mM Na ₄ P ₂ O ₇	100 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7025L	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast) (1U/ μ l)	200 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7025XL	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast) (1U/ μ l)	1ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存, 至少两年有效。

注意事项:

- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20 $^{\circ}$ C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 碧云天生产的Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)在很多反应体系中有反应活性, 很多时候可以直接添加到反应体系中即可有效去除反应产生的焦磷酸, 促进正向反应的进行并提高反应产物的产量。

注意：保证反应体系中含有适量的镁离子可以确保Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)具有很高的活性。Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)比较理想的反应温度是25°C，但在16-37°C均有较好的酶活性。具体在不同反应体系中的用量，需要适当摸索和优化，通常可以在0.05-1 U/ml浓度范围内进行调整。比较理想的反应条件请参考相关文献资料进行。Storage (Dilution) Buffer可以用于Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)的稀释和保存。

2. 焦磷酸盐的水解：

a. 用超纯水将100mM Na₄P₂O₇稀释至10mM，并参考下表在冰浴中配制如下反应体系。

Reagent	Control		Sample	
	Volume	Final Concentration	Volume	Final Concentration
Ultrapure Water	89µl	-	88µl	-
10X Reaction Buffer	10µl	1X	10µl	1X
10mM Na ₄ P ₂ O ₇	1µl	0.1mM	1µl	0.1mM
Pyrophosphatase, Inorganic (yeast) (Diluted)	-	-	1µl	0.5-2.5mU/ml
Total volume	100µl	-	100µl	-

b. 反应条件：25°C孵育10分钟。

注：可适当延长孵育时间，提高水解效果。

c. 用超纯水将5mM磷酸盐标准品稀释至50µM，并参考下表将50µM磷酸盐(Pi)标准品进一步稀释至不同浓度。

Pi (µM)	0	2.5	5	10	20	30	40	50
50µM Pi (µl)	0	10	20	40	80	120	160	200
Ultrapure Water (µl)	200	190	180	160	120	80	40	0
Total Volume (µl)	200	200	200	200	200	200	200	200

d. 96孔板(FPT011)每孔中加入200µl不同浓度的磷酸盐标准品或上述步骤2b的反应产物(100µl反应液+100µl水)。

e. 使用碧云天生产的焦磷酸酶活性检测试剂盒(P0336)检测磷酸根的生成量。

参考文献：

- Cooperman BS. Meth Enzymol. 1982. 87:526-548.
- Cunningham PR, Ofengand, J. Biotechniques. 1990. 9:713-714.
- Zhou GH, Kamahori M, Okano K, Chuan G, Harada K, et al. Nucleic Acids Res. 2001. 29(19):E93.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D2310-1µg	pT3/SP6/T7-RNA-Template (RNA体外转录质粒)	1µg
D2310-100µg	pT3/SP6/T7-RNA-Template (RNA体外转录质粒)	100µg
D2312-1µg	pRNA-T3-T7 (RNA体外转录质粒)	1µg
D2312-100µg	pRNA-T3-T7 (RNA体外转录质粒)	100µg
D2314-1µg	pRNA-SP6-T7 (RNA体外转录质粒)	1µg
D2314-100µg	pRNA-SP6-T7 (RNA体外转录质粒)	100µg
D7383-1ml	NTP set (100mM each, Nuclease free)	4×250µl
D7385-500µl	NTP Mix (10mM each, Nuclease free)	500µl
D7385-2ml	NTP Mix (10mM each, Nuclease free)	2ml
D7387-250µl	NTP Mix (25mM each, Nuclease free)	250µl
D7387-1ml	NTP Mix (25mM each, Nuclease free)	1ml
P0336S	焦磷酸酶活性检测试剂盒	500次
P0336M	焦磷酸酶活性检测试剂盒	2500次
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R7006S	SP6 RNA Polymerase	1KU
R7006M	SP6 RNA Polymerase	5KU
R7006L	SP6 RNA Polymerase	25KU
R7006XL	SP6 RNA Polymerase	100KU
R7009S	T3 RNA Polymerase	1KU
R7009M	T3 RNA Polymerase	5KU
R7009L	T3 RNA Polymerase	25KU

R7009XL	T3 RNA Polymerase	100KU
R7012S	T7 RNA Polymerase	1KU
R7012M	T7 RNA Polymerase	5KU
R7012L	T7 RNA Polymerase	25KU
R7012XL	T7 RNA Polymerase	100KU
R7016S	T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit	25次
R7016M	T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit	100次
R7018S	T7 High Yield RNA Transcription Kit	25次
R7018M	T7 High Yield RNA Transcription Kit	100次
R7020S	SP6 High Yield RNA Transcription Kit	25次
R7020M	SP6 High Yield RNA Transcription Kit	100次
R7025S	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	10U
R7025M	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	50U
R7025L	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	200U
R7025XL	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	1000U
R7028S	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	10U
R7028M	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	50U
R7028L	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	200U
R7028XL	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	1000U
R7031S	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	250U
R7031M	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	1250U
R7031L	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	5KU
R7031XL	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	25KU
R7070S	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	100U
R7070M	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	500U
R7070L	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	2.5KU
R7070XL	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	10KU
R7075S	Poly(A) Polymerase Tailing Kit	50-250次

Version 2022.08.15