

T4 RNA Ligase

Code No. 2050A

包装量: 1,000 U
浓度: 40 U/μl

附带试剂:

10X T4 RNA Ligase Buffer 1 ml
0.1% BSA 1 ml

制品说明:

本酶能使寡核苷酸的5' -P末端和3' -OH末端结合¹⁾，以ATP为辅因子。最小底物为NpNpNOH和pNp。连接效率受供体和受体各自的碱基影响¹⁾。DNA与RNA之间的连接³⁾效率较RNA之间的连接²⁾效率低，DNA之间的连接效率最低，常因不能识别双链核苷酸导致连接失败。

酶贮存溶液:

20 mM Tris-HCl (pH7.5)
50 mM NaCl
1 mM DTT
0.1 mM EDTA
50% Glycerol

保存: -20°C

起源:

Escherichia coli carrying the plasmid encoding T4 RNA ligase gene

活性定义:

以Oligo(A)_n为底物，标记RNA 3'末端，在5°C、10分钟内使1 pmol [5' -³²P] pCp 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为1个活性单位 (unit)。

活性定义反应液:

50 mM HEPES-NaOH, pH7.5
20 mM MgCl₂
3.3 mM DTT
6 μM ATP
0.001% bovine serum albumin
10% DMSO
1.2 μM 3' -OH RNA
2.4 μM [5' -³²P]pCp

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载：
https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途:

1. 单链 RNA 及单链 DNA 的 3' -OH 末端的标记⁴⁾。以 tRNAPhe 为底物，50 units 的本酶于 5°C 反应 16 小时⁴⁾，tRNAPhe 的 3' -OH 标记率高于 80%。
2. 单链 Oligo RNA 及单链 Oligo DNA 的合成²⁾。

使用注意:

1. 连接反应的适合反应温度为 5-16°C，若超过该温度活性会被抑制。
2. PEG 共存的条件下能够促进反应，而反应特异性不变⁵⁾。
3. 为了提高连接反应效率，建议使用酶浓度高而 ATP 浓度尽量低的反应条件。

添附 Buffer 组成 (保存: -20°C):

1. 10X T4 RNA Ligase Buffer
500 mM Tris-HCl, pH7.5
100 mM MgCl₂
100 mM DTT
10 mM ATP

2. 0.1% BSA (终浓度 0.006%)

本 buffer 与活性定义所用 buffer 不同，含有连接短链 RNA 片段实验的主要成分。标记单链 RNA 或单链 DNA 的 3' -OH 末端可使用活性定义所用 buffer，效果理想。

在 10X 反应缓冲液中如果直接加入 0.1% 的 BSA 会产生大量白色沉淀，因此在配制反应液 (终浓度 0.006%) 时，请按下面顺序添加试剂：
灭菌水 → 反应缓冲液 → 0.1% BSA → 底物 RNA or DNA。

使用例:

单链 RNA、DNA 片段的连接反应

1. 在微量离心管中配制下列反应液，全量为 50 μl。
Single-stranded RNA or DNA 1-2 μg
10X T4 RNA Ligase Buffer 5 μl
0.1% BSA 3 μl
T4 RNA Ligase 40-50 U
PEG 6000 final 25%
灭菌水 to 50 μl
2. 在 5-16°C 下反应 16-18 小时。
3. 加入 2 μl 的 0.5 M EDTA 终止反应。

参考文献:

- 1) Gumpert R I and Uhlenbeck O C. *Gene Amplification and Analysis* (Chirikjian J G and Papas T S, eds.) (1982) **2**: 313-345, Elsevier, Amsterdam.
- 2) Romaniuk P J and Uhlenbeck O C. *Methods in Enzymology*. (1983) **100**: 52-59.
- 3) Brennan C A, Manthey A E, and Gumpert R I. *Methods in Enzymology*. (1983) **100**: 38-52.
- 4) England T E, Bruce A G, and Uhlenbeck O C. *Methods in Enzymology*. (1980) **65**: 65-74.
- 5) Harrison B and Zimmerman S B. *Nucleic Acids Res.* (1984) **12**: 8235-8250.

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品，或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术 (北京) 有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202106Da