

T4 RNA 连接酶 1(T4 RNA Ligase1)

Cat. No.: D2703 Store at:-20℃



描述: 催化 3'→5'磷酸二酯键的形成,使核苷酸的 5'-磷酸末端和 3'-羟基末端连接,伴随着 ATP 水解为 AMP 和 PPi。作用底物包括单链 RNA、DNA 及二核苷焦磷酸,它可催化 ssDNA 和 RNA 的连接。

组分

名称	1000U	5000U
T4 RNA Ligase1 (10 U/μl)	100 μl	500 μl
10xT4 RNA Ligase Buffer	250 μl	1.25 ml
10mM ATP	250 μl	1.25 ml
50% PEG 8000	1 ml	1 mlx5

应用

- 连接单链 RNA 和 DNA
- RNA 3'末端标记
- RNA 和 DNA 分子内和分子间连接

储存: -20℃可保存 3 年。

活性定义: 1 单位指在 1xT4 RNA Ligase Buffer 中,37℃条件下,30 分钟内将 1nmol 的 5'-[³²P]rA16 转化为磷酸盐不溶物质所需要的酶量。

使用注意事项

- (1) 1x T4 RNA Ligase Buffer: 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT。该酶反应时需要加入终浓度 1 mM ATP。
- (2) 最佳反应温度 37℃, 65℃ 10min 可使该酶失活。
- (3) 该酶的连接底物无论是 ssDNA 还是 ssRNA 均需要 5'-磷酸化或预腺苷化。
- (4) 该酶不能连接双链 DNA 或 RNA。
- (5) 加入终浓度 20% PEG 8000 或增加孵育时间可提高连接效率。

使用方法

1. 配制如下反应体系 (20 μl)

ssRNA(底物)	10 pmol
ssDNA/ssRNA(接头)	20 pmol
10 xT4 RNA Ligase Buffer	2 μl
50% PEG 8000	8 μl
T4 RNA Ligase1(10 U/μl)	1 μl
ATP(10 mM)	2 μl
RNase Inhibitor(80U/μl)	0.5 μl
DEPC 水	up to 20 μl

2. 25℃反应 1-2h。

3. 10mM EDTA 或 65℃15min, 终止反应。