

PBCV DNA 连接酶 (PBCV DNA Ligase)

Cat. No.: D3102 Size: 1250U Store at: -20°C

描述: PBCV DNA 连接酶也称为 SplintR 连接酶或 Chorella 病毒 DNA 连接酶, 它能够高效催化相邻的 DNA 核苷酸的连接, 这个连接过程需要一条互补的 RNA 在两条 DNA 单链间起“夹板”或“桥梁”的固定作用。PBCV DNA 连接酶的这种活性远远优于传统的 T4 DNA 连接酶, 有助于 miRNAs 和 mRNAs, 包括 SNPs 在内的研究方法的创新。另外, 在二代测序和分子诊断等众多领域中, PBCV DNA 连接酶是富集目的基因的理想选择。它具有稳定的生物活性, 对 RNA 介导固定的 DNA 底物亲和性强 (米氏常数 $K_m = 1 \text{ nM}$), 能够在复杂的混合物中检测到亚纳摩尔级的特定 RNA。因此, 在 RNA 检测技术中, PBCV DNA 连接酶不失为最佳选择用酶。

组分

名称	1250U
PBCV DNA Ligase (25 U/ μl)	50 μl
10xPBCV Ligase Buffer	250 μl

储存: -20°C 可保存 2 年。

10xPBCV Ligase Buffer: 500 mM Tris-HCl, pH 7.5, 50 mM MgCl_2 , 25 mM DTT, 5 mM ATP.

活性定义: 25°C 反应 30 分钟条件下, 使 1pmol 的 DNA:RNA 杂交底物连接所需要的酶量定义为 1Unit。

反应温度及失活

该酶的最佳反应温度为 25°C, 可在 16-37°C 之间优化, 37°C 可明显提高反应的特异性; 该酶在 65°C 加热 20min 即可失活。

使用方法

1. 连接反应

连接底物 (1 μM)	2 μl
10xPBCV Ligase Buffer	2 μl
PBCV DNA Ligase(25 U/ μl)	1 μl
灭菌水	up to 20 μl

25°C 反应 15-60min。

2. 65°C 加热 20min, 使酶失活。

注意事项

1. 该酶对一价阳离子非常敏感, 如 NaCl 或 KCl 的浓度应低于 50 mM。
2. 该酶的反应温度为 16~37°C, 最佳温度为 25°C。
3. 连接效率随着夹板 RNA 长度的减少而降低, 当长度小于等于 10nt 时, 连接效率为零。