

T4 RNA Ligase2 (dsRNA ligase)

Cat.No.: D2705 Store at:-20°C



描述: T4 RNA 连接酶 2 (dsRNA), 是一种依赖于 ATP 的双链 RNA 连接酶, 可以用于双链 RNA 进行分子内的环化连接和分子间的线性连接及双链结构中 RNA 的 3' 羟基与 DNA 5' 磷酸基的切刻的连接。该酶对双链 RNA 中的缺刻的连接活性要大大高于对单链 RNA 末端的连接活性, 连接时需要 5'磷酸和 3'羟基。该酶催化 dsRNA 缺刻处的 3'羟基进攻该缺刻处的 5'磷酸基团, 形成 3'-5'磷酸二酯键, 从而完成连接。

组分

名称	500U	2000U
T4 RNA Ligase2(dsRNA)(10 U/μl)	50 μl	200 μl
10×T4 RNA Ligase Buffer	500 μl	500 μl
10 mM ATP	50 μl	200 μl
50% PEG 8000	500 μl	500 μl

储存: -20°C 可保存 3 年。

活性定义: 1 单位指 20 μl 反应体系中, 37°C 条件下, 30 分钟连接 10 pmol 的缺刻 dsRNA 底物所需的酶量。

使用注意事项

(1) 1× T4 RNA Ligase Buffer: 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM MgCl₂, 1mM DTT。该酶反应时需要 0.5 mM 的 ATP。

(2) 该酶的连接接头需要 5'-磷酸化。

(3) 该酶最佳底物为缺刻的 dsRNA。

(4) 加入终浓度 5~10% PEG 8000 可提高连接效率。

热失活

85°C 加热 5min 可使该酶失活。

使用方法

1. 配制连接体系

10×T4 RNA Ligase Buffer	2 μl
10 mM ATP	0.8 μl
Nicked dsRNA (20 μM)	2 μl
T4 RNA Ligase2 (dsRNA) (10 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O upto	20 μl

2. 25°C 条件下连接 1h。

注意: 用于 RNA/DNA 杂合链中 RNA 3'羟基与 DNA 5'磷酸基的缺刻连接时, 在反应体系中加入终浓度为 5-10% 的 PEG8000, 这样可以显著提高酶活性, 同时不影响反应特性。