T4 RNA Ligase2, truncated K227Q

Cat. No.: D2704　　Store at:-20℃

描述：T4 RNA 连接酶 2，截短型 K227Q（T4 Rnl2tr K227Q）能特异性将 5'末端预腺苷化的 DNA 或 RNA 连接到 RNA 的 3' OH 末端。反应无需 ATP，但需预腺苷化接头。T4 Rnl2tr K227Q 是 T4 RNA 连接酶 2，截短型的双点突变体。K227 和 R55 的双突变降低了赖氨酰腺苷化，利用预腺苷化接头使连接反应背景降为最低。该酶可用于二代测序 small RNA 的文库构建。

组分

名称	4000U	20kU
T4 RNA Ligase2, truncated K227Q (200 U/μl)	20 μl	100 μl
10×T4 RNA Ligase Buffer	250 μl	1.25 ml
50% PEG 8000	200 μl	1 ml

储存：-20℃可保存 3 年，避免反复冻融。

活性定义：200 单位指在标准反应体系，25℃反应条件下，1h 能将 80%的 31-merRNA 连接到预腺苷化的 17-merDNA 末端所需的酶量。

使用注意事项

（1）1× T4 RNA Ligase Buffer：50 mM Tris-HCl pH 7.5，10mM $MgCl_2$，1mM DTT。该酶反应时不需要 ATP。

（2）最佳反应温度 25℃，65℃ 20min 可使该酶失活。

（3）该酶的连接接头需要 5'-预腺苷化。不能连接磷酸化底物。

（4）该酶不能连接双链 DNA 或 RNA。

（5）加入终浓度 15% PEG 8000 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)	20-40 pmol
10 ×T4 RNA Ligase Buffer	2 μl
50% PEG 8000	6 μl
T4 RNA Ligase2(200U/μl)	1 μl
RNase Inhibitor(80U/μl)	0.5 μl
DEPC 水	up to 20 μl

2. 25℃反应 1-2h。

3. 10 mM EDTA 或 65℃ 20min，终止反应。

注意：本产品仅供研究用，请勿用于人体及动物的治疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。