

T4 RNA Ligase2-truncated

Cat.No.: D2704 Store at:-20°C



描述: T4 RNA 连接酶 2 (T4 RNA Ligase2-truncated), 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。与 T4 RNA Ligase2 野生型不同, 该酶不能连接 5'端磷酸化底物。

该酶为截短型的双点突变体, 包含 K227 和 R55 的双突变, 降低了赖氨酰腺苷化, 并提高了酶的连接活性。连接反应的背景被降为最低是因为: 不再使用 ATP, 而改用预腺苷化接头, 同时降低赖氨酰腺苷化酶的活性。该酶可用于二代测序 small RNA 的文库构建。

组分

名称	5000U	20KU
T4 RNA Ligase2-truncated(200 U/μl)	25 μl	100 μl
10xT4 RNA Ligase Buffer	500 μl	500 μl
50% PEG 8000	500 μl	500 μl

储存: -20°C 可保存 3 年。

活性定义: 200 单位指在标准反应体系, 25°C 反应条件下, 1h 能将 50%的 31-merRNA 连接到 10pmol 的预腺苷化的 17-merDNA 末端所需的酶量。

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。该酶反应时不需要 ATP。

(2) 该酶的连接接头需要 5'-预腺苷化。不能连接磷酸化底物。

(3) 该酶不能连接双链 DNA 或 RNA。

(4) 加入终浓度 5~10% PEG 8000 可提高连接效率。

使用方法

1. 配制连接体系

10xT4 RNA Ligase Buffer	2 μl
50% PEG8000	4 μl
RNA 连接底物(10 μM)	2 μl
5'腺苷化 DNA 接头(20 μM)	2 μl
T4 RNA Ligase2-truncated(200 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O upto	20 μl

2. 25°C 条件下连接 1-2h。

3. 10 mM EDTA 或 65°C 20min, 终止反应。