

T4 RNA 连接酶 2，截短型 目录号：AE1353

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

T4 RNA 连接酶 2，也被称为 T4 Rnl2 (gp24.1)，同时具有 RNA 链分子间和分子内连接活性。与 T4 RNA 连接酶 1 (NEB #M0204) 不同的是，T4 RNA 连接酶 2 对双链 RNA 切刻的连接活性要明显高于对单链 RNA 的末端连接。该酶也可用于连接双链结构中 RNA 3' 羟基和 DNA 5' 磷酸基的切刻。

本公司 T4 RNA 连接酶 2，截短型是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 单位指 20 μ l 反应体系中，37°C 条件下，30 分钟完全连接 0.4 μ g 的 23-mer 和 17-mer RNA 等摩尔混合物所需的酶量。

活性测定条件

1 $\times$ T4 RNA 连接酶 2 反应缓冲液[50 mM Tris-HCl (pH 7.5 @ 25°C), 2mM MgCl₂, 1 mM DTT, 400 μ M ATP], 0.4 μ g 的 23-mer 和 17-mer RNA 等摩尔混合物，37°C 温育。

浓度：10U/ μ l

保存条件：-20°C可保存 2 年，避免反复冻融

特点与适用范围

- 连接粘性末端接头
- DNA 或 RNA 序列连接到任何 RNA 3'末端
- 用于 DNA/RNA 杂交链中，RNA 3' 羟基与 DNA 5' 磷酸基的连接
- 连接双链 RNA 中切刻

产品包装规格及组成

Component	AE1353A	AE1353B
T4 RNA 连接酶 2	150U	750U
10 $\times$ T4 RNA 连接酶 Buffer	0.2ml	1.0ml
50% PEG8000	0.2ml	1.0ml

质量控制

相关测试表明无外源单链和双链 DNA 核酸内切酶、外切酶、RNase 以及磷酸酶的污染。
PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

酶贮存缓冲液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 35mM (NH₄)₂SO₄, 0.1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.5 @ 25°C

注意事项

- 热失活：80°C温育 20 分钟。
- 可加入核酸酶抑制剂防止 RNA 污染。

使用实例：3' OH of RNA 和 5'磷酸化 DNA linker 连接反应

1) 制备 DNA/RNA 切刻型底物：将等摩尔比例的 DNA/RNA 混合物在 65 度加热 3min，在冰上放置 2min。制备 DNA/RNA 切刻型底物可以立即使用，也可以保存在-20 度备用。

2) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10×T4 RNA 连接酶 Buffer	2ul
MgCl ₂ (100mM)	1.6 μl
Nicked DNA/RNA Substrate (10 μM)	2ul
50% PEG8000*	4ul
T4 RNA Ligase 2 (10 U/μl)	1ul
无核酸酶 H ₂ O	9.4ul
总体积	20ul

3) 25℃×1h 反应，

3) 添加蛋白酶 K 或终浓度 20mM EDTA 失活酶，

4) 尿素变性 PAGE 电泳检测酶切产物，或按实验目的进行后续操作。

* 为了提高连接效率，PEG8000 浓度可以高达 25%

使用实例：dsRNA 中切刻的连接

1) 制备 dsRNA 切刻型底物：将等摩尔比例的 dsRNA 混合物在 65 度加热 3min，在冰上放置 2min。制备 dsRNA 切刻型底物可以立即使用，也可以保存在-20 度备用。

2) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10×T4 RNA 连接酶 Buffer	2ul
Nicked dsRNA Substrate (10 μM)	2ul
T4 RNA Ligase 2 (10 U/μl)	1ul
无核酸酶 H ₂ O	15ul
总体积	20ul

3) 25℃×1h 反应，

3) 添加蛋白酶 K 或终浓度 20mM EDTA 失活酶，

5) 尿素变性 PAGE 电泳检测酶切产物，或按实验目的进行后续操作。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。