

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，截短型（T4 Rnl2 截短型）可特异性地将 5'端预腺苷化的 DNA 或 RNA 连接到 RNA 的 3'末端。该酶连接时不需要 ATP，但需要预腺苷化底物。T4 Rnl2 截短型来自于 T4 RNA 连接酶 2 基因的前 249 个氨基酸。与全长的 T4 RNA 连接酶 2 不同，T4 Rnl2 截短型不能将底物的 5'末端腺苷化，因此无法将 5'末端磷酸化 RNA 或 DNA 连接到 RNA 的 3'端。截短型 T4 Rnl2（1-249），可用于 microRNA 克隆中接头连接的优化，且只能利用腺苷化的引物，因此可以降低连接背景。

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

200 活性单位指在 25°C，1×T4 RNA 连接酶反应缓冲体系（20ul），60 min 内将 80%的 31-mer RNA（5'-FAM-rArGrUrCrGrUrArGrCrCrUrUrUrArUrCrCrGrArGrArUrUrCrArGrCrArArUrA-3'）连接到预腺苷化的 miRNA 通用克隆接头 17-mer DNA（5'-rAppCTGTAGGCACCATCAAT-NH2-3'，14μM）末端所需的酶量。

活性测定条件

1× T4 RNA 连接酶 2 反应缓冲液：50 mM Tris-HCl (pH7.5 @ 25°C)，10 mM MgCl₂，1 mM DTT，10% (w/v) PEG 8000, 20 pmol of 5'-FAM-RNA, 40 pmol 预腺苷化 DNA，25°C温育 60min。

浓度：200U/μl

保存条件：-20°C可保存 2 年，避免反复冻融

特点与适用范围

- 将预腺苷化的 DNA 或 RNA 序列标签连接到任何 RNA 3'末端
- 将单链腺苷化引物连接至小 RNA 上，用于 cDNA 文库构建
- 将单链腺苷化引物连接至 RNA 上，用于链特异 cDNA 文库构建

产品包装规格及组成

Component	AE1353A	AE1353B
T4 RNA 连接酶 2，截短型 1-249	2000U	10kU
10× T4 RNA 连接酶 2 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，100 mM NaCl，1 mM DTT，0.1 mM EDTA，50% Glycerol，pH 7.5 @ 25°C

注意事项

- 热失活：65°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'预腺苷化 DNA linker 连接反应

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10×T4 RNA 连接酶 2 Buffer	2ul
RNA 底物 (10μM)	2ul
5'预腺苷化 DNA linker (20μM)	2ul
50% PEG8000*	4ul
酶(200 U/μl)	1-2ul
无核酸酶 H ₂ O	Yul
总体积	20ul

2) 25℃×1-2h 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%

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。