



GSPure® T4 RNA Ligase 1

产品介绍

T4 RNA Ligase 1, 即 T4 RNA 连接酶 1, 是一种依赖 ATP 的可以催化单链 RNA、单链 DNA 或单核苷酸分子间或分子内 5'-P 末端与 3'-OH 末端之间形成磷酸二酯键的酶。可用于 ssRNA 的分子间连接; ssRNA 与 ssDNA 的分子间连接; ssRNA 3'-OH 末端用放射性同位素 5'-[³²P]pCp 等的标记; 单链 Oligo RNA 及 Oligo DNA 的合成; tRNA 的特别修饰; 在蛋白质中引入非天然氨基酸等。

来源: 大肠杆菌表达的重组蛋白, 表达基因的来源为 T4 噬菌体。

产品规格

货号	试剂	规格	保存条件
R0502	GSPure® T4 RNA Ligase 1	1000 U	-20°C

产品组分

组分	1000U	储存条件
T4 RNA Ligase 1(10U/μL)	100μL	-20°C保存
10× Reaction Buffer	300μL	
ATP(10mM)	200μL	
PEG8000(50%, RNase free)	500μL	
DEPC-treated Water	1mL	

Storage Buffer: 10mM Tris-HCl (pH7.4), 50mM KCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 50%Glycerol.

10× Reaction Buffer: 500mM Tris-HCl(pH7.5), 100mM MgCl₂, 10mM DTT。

失活或抑制: 65°C 加热 15min 或煮沸 2min 可使其失活或加入 10%体积的 0.5M EDTA(pH8.0) 也可以终止反应。

质量控制

- 1、无 RNase、DNase 污染;
- 2、经考马斯亮蓝染色的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶染色判断, 其纯度>90%。

活性单位定义

在 37°C下, 在 5'末端浓度为 10μM 时, 在 30min 内催化 1nM 的 5'-[³²P]rA16 形成抗磷酸酶形式所需的酶的量被定义为一个单位。



反应体系

1. 对于单链 RNA 的环化连接反应，请于冰盒上按下表配制反应体系：

组分	添加量	反应终浓度
DEPC-treated Water	Up to 20 μ L	-
ssRNA	X μ L	0.5 μ M
10 \times Reaction Buffer	2 μ L	1 \times
ATP (1mM)	1 μ L	50 μ M
T4 RNA Ligase 1(10U/ μ L)	1 μ L	0.5U/ μ L
Total	20 μ L	-

2. 对于单链 RNA 或 DNA 的分子间连接反应，请于冰盒上按下表配制反应体系：

组分	添加量	反应终浓度
DEPC-treated Water	Up to 20 μ L	-
ssRNA	X μ L	0.5 μ M
10 \times Reaction Buffer	2 μ L	1 \times
ATP(10mM)	1 μ L	50 μ M
PEG8000 (50%, RNase free)	8 μ L	20%
T4 RNA Ligase 1(10U/ μ L)	1 μ L	0.5U/ μ L
Total	20 μ L	-

注意：

(1) 由于涉及 RNA 操作，需要严格按照 RNA 操作的规范进行，避免 RNase 污染，相关试剂和耗材需要是 RNase free 的。由于涉及单链 RNA，可以考虑适量添加 RNase Inhibitor，推荐反应终浓度为 1 ~ 2U/ μ L，即使不添加 RNase Inhibitor 时也可以获得良好的连接效果。

(2) 上述表格中 ssRNA 的用量已经比较大，对于样品比较少的情况下，可以大幅减少 ssRNA 的用量的。

(3) 根据连接反应的类型，推荐在反应体系中加入适量的 PEG8000。建议连接单链 RNA 或 DNA 的分子间连接反应体系中 PEG8000 的终浓度为 15% ~ 25%，这样既不影响反应特性也可以显著提高酶活性。

反应条件

37 $^{\circ}$ C 孵育 30min。如果发现效果欠佳可以尝试 25 $^{\circ}$ C 孵育 2h 或 16 $^{\circ}$ C 孵育 16h。为了使连接反应更加充分，可以适当延长连接反应时间。

注意事项

- 1、本产品连接的底物无论是单链 RNA 还是单链 DNA，都需要确保 5'末端磷酸化或腺苷酰化，同时 3'末端是羟基；
- 2、如果连接底物为双链 RNA 或 DNA，推荐使用 GSPure[®] T4 RNA Ligase 2 等；
- 3、可根据具体应用选择合适的操作方法，可能需准备额外的试剂，如 RNase inhibitor、DEPC 水等；
- 4、本试剂盒提供的 ATP 浓度为 10mM，请根据实际操作进行稀释使用；
- 5、本产品仅限于专业人员的科学研究用，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。