



GSPure® Circular RNA Synthesis Kit

产品简介

ssRNA Cyclase 是一种耐热连接酶，环状 RNA 合成试剂盒可催化单链 DNA (ssDNA) 和单链 RNA (ssRNA) 底物的离子分子连接（即环化）。环化反应中，要求催化底物单链 DNA/RNA 具有 5'-磷酸基团和 3'-OH 基团。

ssRNA Cyclase 能生产用于滚动圈复制或滚动圈转录实验和下一代测序的单链 DNA 模板以及生产 15~500nt 环状 RNA。

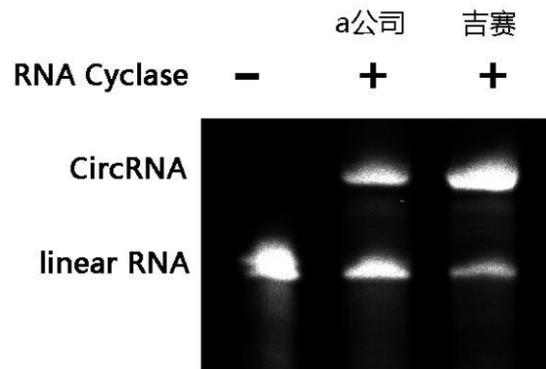


图 1 使用 GSPure®Circular RNA Synthesis Kit 制备环状 RNA 的效果图

反应体系为 20 μ L，长度为 307nt 的单链 RNA 的终浓度为 1 μ M，反应条件为 45 $^{\circ}$ C 孵育 60min，随后取样用 6% 尿素变性聚丙烯酰胺凝胶电泳，最终经 SYBR™ Gold 核酸染料孵育后荧光成像分析。如图所示，本试剂盒在 60min 内就可以将 85% 以上的 5' 磷酸化 3' 羟基的单链 RNA 转化为环状 RNA。

产品规格

货号	试剂	规格	保存条件
R0501	GSPure® Circular RNA Synthesis Kit	50rxns	-25 ~ -18 $^{\circ}$ C

产品组分

组分	50 reactions	储存条件
ssRNA Cyclase	50 μ L	-18 ~ -25 $^{\circ}$ C 保存
10 \times Reaction buffer	100 μ L	
ATP(1mM)	25 μ L	
DEPC-treated Water	500 μ L	

Storage Buffer: 10mM Tris-HCl(pH7.5), 50mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50%Glycerol。



10× Cyclase reaction buffer: 500mM Tris-HCl(pH7.5), 100mM KCl, 50mM MgCl₂, 10mM DTT。对于 ssDNA 的环化, 我们建议添加 MnCl₂ 最终浓度 2.5mM。

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, 纯度>90%。

反应体系

按以下组分配制反应液:

组分	添加量	终浓度
DEPC-treated Water	Up to 20μL	-
ssDNA/RNA	10pmol	0.5μM
10× Reaction buffer	2μL	1×
ATP (1mM)	0.5μL	0.025mM
ssRNA Cyclase	1μL	-

反应条件

环化反应: 45°C 孵育 60min。

注意事项

- 1、使用本试剂盒时, 请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩、使用 RNase-free 耗材, 避免 RNase 污染;
- 2、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经过 DEPC 处理去除 RNase 或者确保是 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/μL;
- 3、连接底物必须是磷酸化;
- 4、对于 ssDNA 的环化, 如寡脱氧核苷酸或 cDNA, 将 MnCl₂ 添加到最终浓度为 2.5mM;
- 5、使用尿素变性聚丙烯酰胺凝胶或琼脂糖凝胶电泳时, 请使用已预冷的电泳缓冲液或在冰水浴中电泳, 以防电泳过程温度过高导致 RNA 降解。