

ssDNA/RNA 环化连接酶说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

ssDNA/RNA CircLigase 为热稳定的 DNA/RNA 连接酶，不依赖于 ATP，可催化单链 DNA 或单链 RNA 的环化，也可催化其分子间连接，但其对单链 DNA 的连接效率更高。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。对于大于 15nt 的单链底物，该酶都能高效的连接。该酶还可催化 DNA 或 RNA 分子与预腺苷化的 DNA 接头之间的连接，另外，在 ATP 过量的情况下，该酶可使 DNA/RNA 分子腺苷化。

组分

名称	2000U
ssDNA/RNA CircLigase (100 U/μl)	20 μl
10×CircLigase Buffer	250 μl
50mM MnCl ₂	100 μl

活性定义: 60° C 1h 条件下，催化 1pmol 5' -磷酸化参照 Oligo (55mer) 完全环化所需的酶量定义为 1U。

储存: -20°C 可保存 3 年。

反应实例:

1. 按以下组分配制反应液

CircLigase (100 U/μl)	1 μl
ssDNA/RNA	10 pmol
10×CircLigase Buffer	2 μl
50mM MnCl ₂	1 μl
ddH ₂ O	Up to 20 ul

60 °C 孵育 1h 进行环化反应，80 °C 10min 失活该酶。

2. PAGE 胶检测

反应产物于 20% 丙烯酰胺/8M 尿素变性凝胶电泳后，选择合适方法染色，观察环化或连接产物情况。未环化的底物或腺苷化的底物可用 Exonuclease I 酶进行消化。

使用注意事项:

- (1) ssRNA 的连接不需要加入 $MnCl_2$ 。
- (2) 实验来看，加入 $20\ \mu M$ 终浓度的 ATP 可提高连接效率约 25%。
- (3) 加入 $0.4\sim 0.8M$ Betain 可提高含有二级结构的单链核酸连接效率。
- (4) 连接底物必须是磷酸化或腺苷化产物。