

公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！

商品属性：

产品名称	规格	货号
ssDNA/RNA环化连接酶	2000U	P-PR1325
ssDNA/RNA环化连接酶	20KU	P-PR1325

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 的分子内环化。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。对于大于 15nt 的单链底物，该酶都能高效的连接。

组分

名称	2000U	20kU
ssDNA/RNA CircLigase (100 U/μl)	20 μl	200 μl
10×CircLigase Buffer	500 μl	500 μl
50mM MnCl ₂	250 μl	250 μl

活性定义：65°C 1h 条件下，催化 1pmol 5'-磷酸化的 ssDNA 底物环化，所需的酶量定义为 1Unit。

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

5'磷酸化 ssDNA/RNA 10-100 pmol

10×CircLigase Buffer 2 μl

50mM MnCl₂ 1 μl

ddH₂O Up to 20 ul

65°C 孵育 1h 进行环化反应。

2. 失活反应

反应结束后，可加入终浓度 10mM EDTA 终止反应。或采用

加热方式 85°C 10min 加热失活。

使用注意事项：

(1) 环化底物 ssDNA 或 RNA 必须带有 5'磷酸基团，3'端含有 OH。

(2) 环化体系中的 ATP 浓度高于 20μM 以上时会极大抑制环化效率，甚至导致环化失败。因此建议底物为纯化产物。

(3) 由于本酶提高了耐热性，在 65°C条件下进行连接反应，在 的测试中 Betain 无益于连接效率提升。

(4) 本酶主要进行分子内环化连接，分子间的连接未检测到。

(5) 本酶对 ssDNA 和 RNA 的环化效率极高，多数情况下，90%以上的底物被环化。未被环化的 ssDNA 可通过加入 5U的 Exonuclease I, 37°C 消化 15min 去除，以获得高纯度的环化 ssDNA。未环化的 ssRNA，将稍后给出去除方案。

(6) 本酶可以连接 15nt 以上的核苷酸，更长的产物连接参数，将稍后给出测试报告及 protocol。

(7) 对于连接底物量较少的实验来讲，推荐缩小体系，而不是减少酶的用量。在小体系实验时注意体系的蒸发，可加入矿物油以防止蒸发。