



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301 或 800-8283301  
 订货 e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)

产品编号	产品名称	包装
R0621S	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	1000U
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	5000U

### 产品简介:

- 碧云天生产的T4 RNA Ligase1, 即T4 RNA连接酶1, 是一种ATP-依赖的可以催化单链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。T4 RNA Ligase1对于RNA之间的连接效率最高, DNA与RNA之间的连接效率次之, 而DNA之间的连接效率最低, 因此也被认为是一种ssRNA ligase。
- T4 RNA Ligase 1主要用于RNA和RNA之间的连接, 连接时需要5'磷酸基团和3'羟基的存在。
- T4 RNA Ligase 1也可以用于RNA和单核苷酸之间的连接, 单核苷酸必须为5'和3'均磷酸化的形式, 此时常用于RNA的3'末端标记。
- T4 RNA Ligase 1也可以用于DNA和RNA之间的连接。当DNA提供5'磷酸基团, RNA提供3'羟基时, 连接效率较高; 当DNA提供3'羟基, RNA提供5'磷酸基团时, 连接效率非常低。
- T4 RNA Ligase也可以用于DNA和DNA之间的连接, 但连接效率非常低。主要用于DNA的环化连接, 例如5' RACE中的cDNA环化。DNA和DNA之间的连接尽管可以进行, 但比较困难。
- T4 RNA Ligase 1催化连接反应过程如下。首先, T4 RNA Ligase 1与ATP发生反应, 产生中间产物T4 RNA Ligase 1-AMP, 并释放焦磷酸; 接着, AMP从中间产物T4 RNA Ligase 1-AMP中转移至核酸的5' 磷酸末端, 形成腺苷酰化核酸中间产物; 最后, 在T4 RNA Ligase 1的催化下, 另一核酸的3' 羟基进攻腺苷酰化核酸中间产物的5' 磷酸末端, 形成3' -5' 磷酸二酯键, 并释放出AMP。
- **用途:** ssRNA的分子间连接; ssRNA与ssDNA的分子间连接; 也可以用于ssDNA分之间连接, 但效率较低; ssRNA 3'-OH末端用放射性同位素5' -[<sup>32</sup>P]pCp等的标记; 单链Oligo RNA及Oligo DNA的合成; tRNA的特别修饰; 在5' -RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends)实验中, 用于寡核苷酸连接到单链cDNA中; 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嗜菌体, 该酶分子量约为44kDa。
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to convert 1 nanomole of 5' -[<sup>32</sup>P]rA<sub>16</sub> into a phosphatase-resistant form in 30 minutes at 37°C。
- **纯度:** 不含DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶, 不含磷酸酯酶。
- **酶储存溶液:** 10mM Tris(pH7.5), 200mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50%(v/v) Glycerol。
- **10X Reaction Buffer:** 500 mM Tris-HCl (pH 8.0 at 25°C), 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM DTT。
- **失活或抑制:** 65°C加热15min或煮沸2min可使T4 RNA Ligase 1失活。或加入10%体积的0.5M EDTA pH8.0也可以终止反应。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0621S-1	T4 RNA Ligase 1(10U/μl)	100μl
R0621S-2	10X Reaction Buffer	300μl
R0621S-3	ATP (10mM)	200μl
R0621S-4	PEG8000 (50%, RNase free)	500μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0621M-1	T4 RNA Ligase 1(10U/μl)	500μl
R0621M-2	10X Reaction Buffer	1.5ml
R0621M-3	ATP (10mM)	1ml
R0621M-4	PEG8000 (50%, RNase free)	1.5ml × 2
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。

### 注意事项:

- 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。
- 如果连接底物为双链RNA或DNA，推荐使用碧云天生产的R0632T4 RNA Ligase 2等系列产品。
- 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。
- 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的分之间连接反应体系中PEG8000的终浓度为15%-25%，这样可以显著提高酶活性，同时不影响反应特性。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明：

### 1. 对于单链 RNA 的环化连接反应，参考下表在冰浴中配制如下反应体系：

Reagent	Volume	Final Concentration
DEPC-treated Water	15.5µl	-
ssRNA (20µM)	0.5µl	0.5µM
10X T4 Rnl1 Reaction Buffer	2µl	1X
ATP (1mM)	1µl	50µM
T4 RNA Ligase 1 (10U/µl)	1µl	0.5U/µl
Total Volume	20µl	-

#### 注意：

- 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R0102 RNase Inhibitor，尽管我们实测不添加RNase Inhibitor时也可以获得良好的连接效果。
  - 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，完全可以大幅减少ssRNA的用量的。
  - 如果同时进行多个连接反应，可以把上表中除ssRNA之外的所有溶液和酶提前预混合，然后再分装到各反应管内。
  - 本产品提供的ATP的浓度为10mM，而用于环化连接反应的ATP浓度为1mM，建议根据具体实验条件进行适当的稀释。
- ### 2. 对于单链 RNA 或 DNA 的分子间连接反应，参考下表在冰浴中配制如下反应体系：

Reagent	Volume	Final Concentration
DEPC-treated Water	7.5µl	-
ssRNA (20µM)	0.5µl	0.5µM
10X T4 Rnl1 Reaction Buffer	2µl	1X
ATP (10mM)	1µl	0.5mM
PEG8000 (50%)	8µl	20%
T4 RNA Ligase 1 (10U/µl)	1µl	0.5U/µl
Total Volume	20µl	-

#### 注意：

- 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R0102 RNase Inhibitor，尽管我们实测不添加RNase Inhibitor时也可以获得良好的连接效果。
  - 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，完全可以大幅减少ssRNA的用量的。
  - 如果同时进行多个连接反应，可以把上表中除ssRNA之外的所有溶液和酶提前预混合，然后再分装到各反应管内。
  - PEG8000的终浓度可以在15%-25%范围内根据连接效果适当调节。
  - 用于分子之间的连接，通常提供5'磷酸的核酸3'羟基需要被封闭(例如氨基修饰)，提供3'羟基的核酸5'端需要被封闭(例如5'端为羟基)。如果提供3'羟基的核酸的量有所不足，提供5'磷酸的核酸的用量可以是提供3'羟基的核酸的2倍左右。
- 连接反应：37°C孵育30min。如果发现效果欠佳可以尝试25°C孵育2h或16°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。
  - 终止反应：65°C孵育15min或煮沸2min，即可终止反应。

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0051	Annealing Buffer for RNA Oligos (5X)	1ml
R0056-2ml	PEG8000 (50%, RNase free))	2ml
R0058-1ml	MgCl <sub>2</sub> (100mM, DEPC-treated)	1ml
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U

R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0123	RNase and DNase Away	250ml
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, RNA and DNA Away	250ml
R0621S	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase, 10U/ $\mu$ l)	1000U
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase, 10U/ $\mu$ l)	5000U
R0632S	T4 RNA Ligase 2 (dsRNA Ligase)	1000U
R0635S	T4 RNA Ligase 2, truncated	5kU
R0635M	T4 RNA Ligase 2, truncated	20kU
R0635L	T4 RNA Ligase 2, truncated	100kU
R0700S	小RNA 3' 接头(5' 腺苷化, 3' 封闭)及连接试剂盒	20次
R0702S	Universal miRNA Cloning Linker (5' 腺苷化3' 封闭)	1 $\mu$ g
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (5' 腺苷化3' 封闭)	5 $\mu$ g
R0716S	5' DNA Adenylation Kit	10次
R0716M	5' DNA Adenylation Kit	50次
ST1249-2ml	DEPC ( $\geq$ 97%, Reagent grade)	2ml
ST1249-10ml	DEPC ( $\geq$ 97%, Reagent grade)	10ml
ST036	DEPC	10g

Version 2021.09.10