

5' DNA/RNA Adenylase

产品编号	产品名称	包装
R0719S	5' DNA/RNA Adenylase	3kU
R0719M	5' DNA/RNA Adenylase	15kU

产品简介:

- 碧云天生产的5' DNA/RNA Adenylase, 即5'端DNA/RNA腺苷酰化酶, 也称Single-Strand Nucleic Acid 5' Adenylase或单链核酸5'端腺苷酰化酶, 可以催化5'端磷酸化的单链DNA或单链RNA (pDNA or pRNA)转换生成5'端腺苷酰化DNA (AppDNA)或5'端腺苷酰化RNA (AppRNA)。无论作为底物的DNA或RNA的3'端是否进行了氨基化等封闭, 使用本产品都可以高效催化产生5'端腺苷酰化产物。在反应体系中不存在ATP的条件下, 本产品还可以催化5'端磷酸化的单链DNA (pDNA)生成环状DNA (circular DNA)。
- 5' DNA/RNA Adenylase进行5'端腺苷酰化修饰反应时, 需要ATP和待腺苷酰化修饰的5'端磷酸化的单链DNA或单链RNA。
- 5' DNA/RNA Adenylase催化单链核酸5'端腺苷酰化反应的原理如下: 以5'端磷酸化的单链DNA或单链RNA为底物, 本产品首先将ATP分解成AMP和PPi, 接着AMP转移到单链DNA或单链RNA的5'磷酸基团上, 之后形成腺苷酰化单链DNA或单链RNA, 从而生成腺苷酰化产物。
- 碧云天生产的5' DNA/RNA Adenylase催化5'端磷酸化的单链DNA (pDNA)生成腺苷酰化DNA (AppDNA)的效果请参考图1。

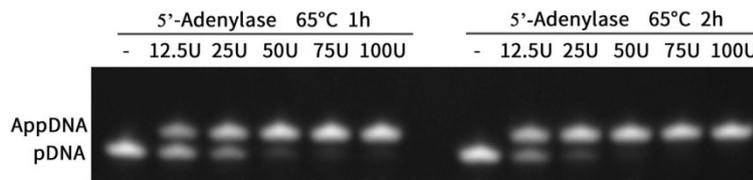


图1. 碧云天生产的5' DNA/RNA Adenylase催化5'端磷酸化的单链DNA (pDNA)转化成腺苷酰化DNA (AppDNA)的效果图。在20 μ l反应体系中加入5 μ M pDNA, 0.1mM ATP, 图中指定量的5' DNA/RNA Adenylase (5' DNA/RNA adenylase), 65 $^{\circ}$ C分别孵育1h和2h, 反应完毕后85 $^{\circ}$ C孵育5min以终止反应。然后每个样品各取1.5 μ l反应产物, 加入2 μ l 6X DNA Loading buffer, 补足水至最终体积为12 μ l, 95 $^{\circ}$ C孵育5min, 随后立即冰浴放置, 变性聚丙烯酰胺凝胶(15%, 7M尿素)进行凝胶电泳分析。如图所示, 反应进行1h需要100U的5' DNA/RNA Adenylase可以将5'端磷酸化单链DNA充分转化成腺苷酰化单链DNA; 而反应进行2h则只需要50U的5' DNA/RNA Adenylase就可以将5'端磷酸化单链DNA充分转化成腺苷酰化单链DNA。

- 用途:** 制备5'端腺苷酰化的单链DNA接头, 最终用于miRNA等3'端为羟基的RNA或3'端为羟基的单链DNA在克隆、高通量测序建库或PCR检测等时, 在3'端添加的接头。
- 来源:** 来源于嗜热菌的腺苷酰化酶基因在大肠杆菌中进行表达纯化而获得。
- 活性定义:** One unit is the amount of enzyme required to catalyze the transfer of 1pmol of AMP to pDNA substrate in a total reaction volume of 20 μ l in 15 minutes at 65 $^{\circ}$ C.
- 纯度:** 不含DNA内切酶和外切酶, 不含核糖核酸酶。
- 失活或抑制:** 85 $^{\circ}$ C加热5min可使5' DNA/RNA Adenylase失活。
- 反应体系为20 μ l时, 本产品的3kU和15kU包装分别可以进行40次和200次的5'端DNA/RNA腺苷酰化反应。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0719S-1	5' DNA/RNA Adenylase (75U/ μ l)	40 μ l
R0719S-2	10X Adenylase Reaction Buffer	100 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0719M-1	5' DNA/RNA adenylase (75U/ μ l)	200 μ l
R0719M-2	10X Adenylase Reaction Buffer	500 μ l
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存，至少2年有效。

注意事项：

- 底物单链DNA或单链RNA的5'端磷酸化是必须的，3'端可以进行氨基化等封闭，也可以不封闭；不进行3'端氨基化等封闭时，建议将ATP的浓度增加至0.5mM，可以避免底物发生环化或串联反应。
- 5' DNA/RNA adenylation不能连接双链DNA (dsDNA)之间的缺口。
- 5' DNA/RNA adenylation的最佳反应温度为65°C，并且在25°C时会出现去腺苷酰化现象，因此反应完成后推荐在85°C孵育5min以失活5' DNA/RNA adenylation。如果没有充分失活5' DNA/RNA adenylation，后续经历室温温度条件时，会导致腺苷酰化比例下降。
- 5' DNA/RNA adenylation使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 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. 解冻5'端腺苷酰化修饰反应所需的各种试剂，将5' DNA/RNA adenylation置于冰上或冰盒内。
2. 参考下表在冰浴中配制如下反应体系：

Reagent	Volume	Final Concentration
Water (DNase/RNase free)	14μl	-
ssDNA or ssRNA (100μM)	1μl	5μM
10X Adenylation Reaction Buffer	2μl	1X
ATP (1mM)	2μl	0.1mM
5' DNA/RNA adenylation (75U/μl)	1μl	3.75U/μl
Total Volume	20μl	-

注1：如果同时进行多个腺苷酰化反应，可以把上表中除ssDNA或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。

注2：如果涉及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。如果涉及单链RNA，推荐适量添加R0102 RNase Inhibitor。

3. **腺苷酰化反应：**65°C孵育1h。为了使连接反应更加充分，可以适当延长反应时间。
4. **终止反应：**85°C孵育5min以终止反应。
5. **腺苷酰化产物的电泳鉴定：**电泳上样前95°C孵育5min随后置于冰浴，以充分变性。尿素(7M)变性聚丙烯酰胺凝胶(15%)进行凝胶电泳分析。腺苷酰化修饰后分子量会变大一点(参考图1)。
6. **浓缩及后续用途：**可以采用常规的乙醇沉淀方法进行浓缩，后续可以使用T4 RNA Ligase2, truncated (200U/μl)等用于和小RNA等的3'羟基的连接反应。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7006	T4 DNA Ligase	40,000U
D7008	T4 DNA Ligase	200,000U
D7012	DNA末端平滑试剂盒	20次
D7035	Klenow Fragment	100U
D7039	Klenow Fragment, Exo-	100U
D7051	T4 DNA Polymerase	50U
R0719S	5' DNA/RNA adenylation	3000U
R0719M	5' DNA/RNA adenylation	7500U
D7096	T4 Polynucleotide Kinase	100U
D7160FT	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-) (试用装)	2000U
D7160S	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	10KU
D7160M	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	50KU
D7160L	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	200KU
D7176S	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	10KU
D7176M	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	50KU
D7176L	BeyoRT™ III M-MLV反转录酶	200KU
D7213S	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	200U
D7213M	BeyoAmp™ Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7215S	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	200U

D7215M	BeyoAmp™ Plus Extra-long DNA Polymerase	1000U
D7220	BeyoFusion™ DNA Polymerase	200U
D7221	BeyoFusion™ DNA Polymerase	1000U
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0621S	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	1000U
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	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)	1μg
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	5μg
R0716S	5' DNA Adenylation Kit	10次
R0716M	5' DNA Adenylation Kit	50次
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U
ST1249-2ml	DEPC (≥97%, Reagent grade)	2ml
ST1249-10ml	DEPC (≥97%, Reagent grade)	10ml
ST036	DEPC	10g

Version 2021.01.21