

PBCV DNA ligase (25 U/ μ L)

产品简介

PBCV DNA Ligase, 亦称为 SplintR 连接酶、PBCV-1 DNA Ligase 或 Chorella 病毒 DNA 连接酶, 是一种 ATP 依赖的 DNA 连接酶, 能够高效催化与一条互补的 RNA 单链配对的两条相邻 DNA 单链的连接反应。这两条相邻的 DNA 链中, 提供 3' 羟基的被称之为受体 DNA 链(Acceptor DNA), 提供 5' 磷酸的被称之为供体 DNA 链(Donor DNA), 在这个连接过程中需要一条互补的 RNA 链对两条 DNA 单链起“夹板”或“支架”的作用。PBCV DNA ligase 的连接酶活性远优于传统的 T4 DNA 连接酶, 对以 RNA 为夹板的 DNA 底物 (表观 $K_m = 1 \text{ nM}$, K_m 值越小表示亲和力越强) 表现出亲和力, 能够对复杂混合物中独特的 RNA 种类进行亚纳摩尔级检测, 使其应用到高灵敏 RNA 检测技术, 非常适合用于许多二代测序和分子诊断等应用中的靶标富集流程。

产品信息

货号	14962ES80 / 14962ES90
规格	1,250 U / 5,000 U
来源	<i>E.coli</i> 表达的来源于 <i>Chorella virus</i> 的 PBCV-1 DNA Ligase 基因
分子量	34 KD
酶活定义	一个单位定义为在 25°C, 15 min 内, 于 1X PBCV Ligase buffer 中, 将 2 pmol 的 FAM 标记的 DNA:RNA 杂合底物连接所需的酶量 (至少达到 50% 的完成度)
酶保存液	10 mM Tris-HCl, 300 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% (v/v) Glycerol pH 7.4 @ 25°C
反应条件	50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl ₂ , 1 mM ATP, 10 mM DTT, pH7.5 @25°C
浓度	25 U/ μ L
纯度	>95% (SDS PAGE)
失活条件	65°C, 20 min

组分信息

组分编号	组分名称	14962ES80	14962ES90
14962-A	PBCV DNA ligase (25 U/ μ L)	50 μ L	200 μ L
14962-B	10 x PBCV Ligase buffer	1 mL	1 mL

产品应用

1. 基于探针法的 microRNA 等小 RNA 的检测;
2. 通过互补 RNA 序列进行“夹板”固定的单链 DNA 的连接;
3. 使用 DNA 探针进行连接达到检测特定 RNA 的目的;
4. SNP 或可变剪接的检测;
5. RASL-seq 分析。

储存条件

-25~-15°C保存，有效期 2 年。

使用说明

推荐配置应用反应与体系：

组分	体积
10 x PBCV Ligase buffer	2 μ L
底物 (Substrate) (1 μ M)	2 μ L
PBCV DNA ligase (25 U/ μ L)	1 μ L
H ₂ O	15 μ L
Total	20 μ L

25°C 反应 15-60 min ; 65°C 失活 20 min

注意事项

- 1.本品在 ATP 浓度 (10 μ M - 1 mM) 和 pH (6.5 - 9) 范围内都具有活性。在 $Mg^{2+} > 5$ mM, pH 值位于 7.5 至 8.0 的条件下,可观察到最佳活性。较高温度 (高达 37°C) 和补充 5 mM Mn^{2+} 可以增强该酶活性。盐浓度超过 100 mM 会抑制反应。
- 2.为了您的安全和健康,请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 3.本产品仅作科研用途。