

Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)

产品编号	产品名称	包装
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

产品简介:

- 碧云天生产的Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭), 即通用miRNA克隆接头(5'腺苷化3'封闭)或Universal miRNA Cloning Linker (5' adenylated, 3' blocked), 是一种常用于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。
- 本产品5'端腺苷酰化(也称5'端预腺苷酰化或5'端预腺苷化, 5' pre-adenylated或5' pre-adenylation), 3'端氨基封闭, 可以用于3'端为羟基的RNA的3'端接头的添加。RNA连接酶可以识别“活化”的5'端腺苷酰化的本产品, 在无需ATP存在的条件下, 可将本产品的5'端与另外一条单链寡核苷酸的3'端羟基共价连接。利用5'端腺苷酰化, 3'端封闭的本产品, 加入RNA连接酶, 在无需添加ATP的条件下, 就能实现本产品5'端和目标序列3'羟基的特异性共价连接。例如和miRNA连接时, 可以有效避免miRNA的自连、不同miRNA之间的连接、本产品的自连或本产品不同链之间的连接, 而仅发生本产品5'端和miRNA 3'羟基的特异性连接。
- 本产品的电泳图和连接效果图请参考图1。图中可见, 本产品条带清晰, 纯度高, 与5'端为磷酸化的序列相比有显著的电泳迁移率差异(图1A); 并且本产品使用T4 RNA ligase 2 (T4 Rnl2), truncated与ssRNA连接时, 连接效率非常高(图1B)。

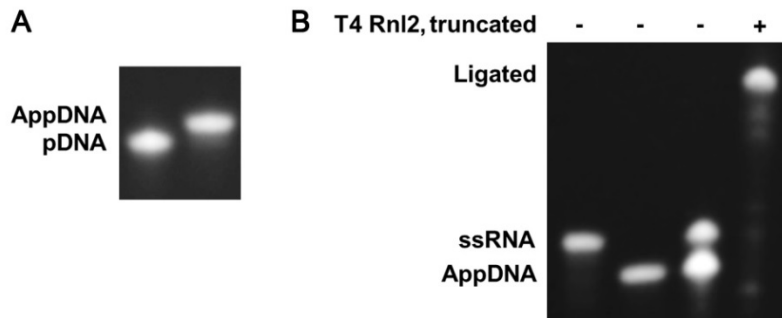


图1. Universal miRNA Cloning Linker Linker (5'腺苷化3'封闭)及其连接效果图图。图A. 本产品5'-rAppCTGTAGGCACCATCAAT-NH₂-3' (AppDNA)与5'-pCTGTAGGCACCATCAAT-NH₂-3' (pDNA)的电泳对比图。图B. 本产品(AppDNA)与ssRNA使用T4 RNA ligase 2 (T4 Rnl2), truncated的连接效果图。图中可见本产品与ssRNA有非常高的连接效率。

- 本产品的寡核苷酸序列是: 5'-rAppCTGTAGGCACCATCAAT-NH₂-3'。本产品的序列同NEB公司的S1315S Universal miRNA Cloning Linker。
- 本产品以水溶液的形式存在, 浓度为40ng/μl, 即6.9μM。
- 用途:** 本产品可以应用于小RNA克隆、miRNA文库构建。
- 本产品的1μg小包装约通常可以进行8-17次连接反应, 5μg中包装约通常可以进行40-85次连接反应。具体的连接反应次数和反应体系的体积和本产品的用量有关。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0702S	Universal miRNA Cloning Linker (40ng/μl)	1μg
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (40ng/μl)	5μg
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。-80°C保存, 至少一年有效。

注意事项:

- 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. 使用本产品与ssRNA的3'羟基末端连接推荐使用T4 RNA Ligase 2, truncated。也可以使用T4 RNA Ligase 2, truncated, K227Q, 或T4 RNA Ligase 2, truncated, KQ (R55K, K227Q)。
2. 参考下表在冰浴中配制如下反应体系:

Reagent	Volume	Final Concentration
ssRNA	x μ l	0.5 μ M
DEPC-treated Water	(1.1 or 2.55)-x μ l	-
Universal miRNA Cloning Linker (6.9 μ mol/ μ l)	2.9 or 1.45 μ l	1 or 0.5 μ M
PEG8000 (50%, RNase Free)	12 μ l	30%
10X Reaction Buffer	2 μ l	1 X
RNase Inhibitor (40U/ μ l)	1 μ l	2U/ μ l
T4 RNA Ligase2, truncated (200U/ μ l)	1 μ l	10U/ μ l -
Total Volume	20 μ l	-

注意:

- a. 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。推荐在连接体系中添加RNase Inhibitor,以避免ssRNA或其连接产物的降解,尽管经测试我们发现在严格操作的情况下,不加RNase Inhibitor也不会导致ssRNA或其连接产物发生明显降解。
 - b. 进行连接反应时,如果样品RNA比较珍贵,希望充分被连接,可以按照接头和样品RNA的摩尔比为2:1的比例进行连接;如果样品RNA比较充裕,同时感觉本产品的成本偏高时,可以按照接头和样品RNA的摩尔比1:1甚至1:2的比例进行连接反应,这样可以很好地节省本产品。
 - c. 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。
3. 连接反应: 25°C, 孵育 60min。为了使连接反应更加充分,可以适当延长连接反应时间。
 4. 终止反应: 65°C, 孵育 15min。

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 ₂ (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/ μ l)	1000U
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase, 10U/ μ 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 μ g
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	5 μ 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 2020.03.09