天净沙系列

CAT#:240347

低温运输，-20℃保存

天净沙

CircLigase ssDNA 环化酶，100 U/μL

CircLigase for ssDNA 100 U/μL

使用手册 V0.81

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

CircLigase ssDNA 环化酶为热稳定的 DNA 连接酶，不依赖于 ATP，可催化单链 DNA 的分子内环化。环化反应中，要求催化底物单链 DNA 具有 5′-磷酸基团和 3′-OH 基团。对于大于 15 nt 的单链底物，该酶都能高效的连接。本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用 logo 热封袋包装

成分	编号	规格	包装
CircLigase ssDNA 环化酶 (100 U/μL)	240347	20 μL	0.5 mL 紫盖管
2.5×CircLigase ssDNA 环化酶反应缓冲液	230191a	0.2 mL	1.5 mL 蓝盖管
50 mM 氯化锰	230191b	0.5 mL	1.5 mL 红盖管
使用手册	240347sc	1 份	无

活性定义：60℃ 1 h 条件下，催化 1 pmol 5′-磷酸化的 ssDNA 底物环化，所需的酶量定义为 1 Unit。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效一年。

自备物品

双蒸水，EDTA。

使用方法

一、按以下组分配制反应液

成分	用量
CircLigase ssDNA 环化酶 (100 U/μL)	1 μL
5′磷酸化 ssDNA	10-100 pmol
2.5×CircLigase ssDNA 环化酶反应缓冲液	8 μL
50 mM 氯化锰	1 μL
自备的双蒸水	到 20 μL

1. 60℃孵育 60 min 进行环化。

二、失活反应

2. 反应结束后，可加入终浓度 10 mM EDTA 终止反应。或采用加热方式 85℃ 10 min 加热失活。

三、注意事项

3. 环化底物 ssDNA 必须带有 5′磷酸基团，3′端含有 OH。该酶对底物的末端碱基，具有偏好性。推荐 5′首碱基为 G（连接效率 G>A，T 和 C 几乎不连接）。3′末端推荐 T 或 A 碱基（T≥A>>G/C）。

	4. 环化体系中的 ATP 浓度高于 20 μM 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。 5. 该酶在 50-70℃条件下均具有活性，最佳反应温度为 60℃，必要时可自行调整。 6. 本酶主要进行分子内环化连接，分子间的连接未检测到。 7. 本酶对 ssDNA 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 0.25 U/μL 的 Exonuclease I，37℃消化 15 min 去除，以获得高纯度的环化 ssDNA。 8. 本酶可以连接 15-nt 以上的核苷酸，本公司测试的最长 ssDNA 为 110 nt（连接效率>90%）。 9. 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。
关联产品	单链 DNA 和单链 RNA 环化酶