天净沙系列

CAT#:221004

低温运输，-20℃保存

天净沙

# 单链 DNA 环化试剂盒（无夹板法）

# ssDNA Circularization Kit

## 使用手册 0.8

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

本试剂盒用于环化单链 DNA，它具有下列特点：

1. 即开即用，十分简单方便，用户不需要辛苦摸索条件。
2. ssDNA 的 5’必须有磷酸基团，3‘必须是羟基基团。
3. 适用于长度在 20nt 以上的单链 DNA。
4. 环化效率最高可以达到 90%以上（ssDNA 越长，效率越低）。
5. 本产品对 ssRNA 也有环化能力，故模板中不得有 RNA 污染。
6. 所得单链环状 DNA 可以用于 RCA 扩增。
7. 本产品足够 50 次 10uL 体系的 ssDNA 环化反应。
8. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品使用五孔盒包装

| 成份 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 2.5×单链 DNA 环化反应液 A | 221004a | 200 uL | 1.5 mL 蓝盖管 |
| 20×单链 DNA 环化反应液 B | 221004b | 500 uL | 1.5 mL 红盖管 |
| 25×单链 DNA 环化酶 | 221004c | 20 uL | 0.5 mL 紫盖管 |
| 使用手册 | 221004sc | 1 份 | 无 |

## 运输及保存

低温运输，-20℃保存,有效期为一年。

## 自备试剂

ssDNA 模板、超纯水。

## 使用方法

1. 准备单链 DNA 模板：可以用自选的方法制备单链 DNA 模板，最简单的方式是直接人工合成单链 DNA，但必须将 5 端修饰为磷酸基团（合成 DNA 5 端的默认基团是-OH)。如果单链 DNA 来源于其他反应体系，则最好电泳回收(如尿素-PAGE 电泳）以便去除其他成分对环化反应的干扰。为了方便后续克隆，可以在待突变片段两端设计成专一的、不存在于其他位置的限制性内切酶位点。
2. 设置单链 DNA 环化反应，在 PCR 管中按下表加入各成分：

| 成分 | 样品管 | 阴性对照 |
|---|---|---|
| 5 端磷酸化的单链 DNA<br>(终浓度为 10pmol/uL) | 5 uL | 5 uL |
| 2.5×单链 DNA 环化预混反应液 A | 4 uL | 4 uL |
| 20×单链 DNA 环化预混反应液 B | 0.5 uL | 0.5 uL |
| 25×单链 DNA 环化酶 | 0.4 uL | |
| 超纯水 | 0.1 uL | 0.5 uL |

| | |
|---|---|
| | 3. 65℃保温 1 小时。需要加热盖，否则反应体系中的水会蒸发。<br>4. 如果需要去除没有环化的单链 DNA，可以直接加入 10U 的 Exonuclease 37℃酶切 15 分钟。本试剂不含相关成分。也可以加入本公司的线状 DNA 清除剂（需要另购）。<br>5. 90℃10 分钟灭活反应体系。如果不能加热，可以加入自备的 10mM EDTA。 |
| **关联产品** | 线状DNA清除剂 |

230511lyl