

# Adenylator™ DNA/RNA 5'-Adenylation Kit

Cellscript



**CELLSCRIPT™**  
RNA for Translation in Cells

10 Reaktionen

Artikel-Nr.: 150560 | Cellscript | Hersteller-Nr.: ADR250610

**220,00 €\***

\*zzgl. MwSt. zzgl. Versandkosten

## Beschreibung

Das Adenylator™ DNA/RNA 5'-Adenylierungs-Kit ist ein vielseitiges chemisches Verfahren, das eine effiziente 5'-Adenylierung von 5'-monophosphorylierten DNA- oder RNA-Oligonukleotiden ermöglicht und eine leistungsstarke und robuste Alternative zu aktuellen 5'-Adenylierungsmethoden darstellt. 5'-adenylierte Oligos sind wichtige Substrate für eine Reihe wissenschaftlicher Anwendungen, darunter Next-Generation-Sequencing und RNA-Zirkularisierung.

Ligationsbasierte Adenylierungsmethoden können zu unerwünschten Nebenprodukten (Oligo-Selbstligation) führen, während der Kauf von voradenylierten Oligos kostspielig ist und oft eine lange Lieferzeit hat. Das Adenylator™ Kit bietet eine einfache, kostengünstige und effiziente Lösung für die Adenylierung von DNA und RNA und liefert die dreifache Ausbeute im Gegensatz zu Konkurrenzprodukten.

## Vorteile

- Effiziente Adenylierung: Produzieren Sie 3 nmol 5'-adenylierte DNA- oder RNA-Oligonukleotide in hoher Ausbeute
- Keine unerwünschten Nebenprodukte: Vermeiden Sie Off-Target-Effekte wie Konkatemeralisierung und Zirkularisierung, die bei ligasebasierten Adenylierungsmethoden auftreten.
- Optimierter Arbeitsablauf: Adenylieren Sie Oligos in einer einstufigen, einstündigen Reaktion, anstatt wochenlang auf gekaufte adenylierte Oligos zu warten.
- Skalierbar: Skalieren Sie Reaktionen nach Bedarf, ohne die Adenylierungseffizienz zu beeinträchtigen.

## Produktbeschreibung

Das Adenylator™ DNA/RNA 5'-Adenylierungskit ermöglicht eine effiziente 5'-End-Adenylierung von 5'-monophosphorylierten DNA- oder RNA-Oligonukleotiden. Das Kit bietet eine leistungsstarke, katalytische und bei niedrigen Temperaturen einsetzbare Alternative zu 5'-Adenylierungsmethoden, die herkömmliche thermostabile RNA-Ligasen verwenden. Im Gegensatz zu Mth-RNA-Ligase, die auf hohe Temperaturen (65 °C) angewiesen ist, um Oligo-Zirkularisierung und Konkatamerisierung zu minimieren, arbeitet das Adenylator™-Enzym robust bei 37 °C und kann keine unerwünschte Oligo-Selbstligation katalysieren.

Jedes Kit (für 10 Reaktionen) adenyliert 3 nmol DNA- oder RNA-Oligonukleotide in einem einstufigen, einstündigen, skalierbaren Arbeitsablauf.

Die resultierenden 5'-adenylierten Oligonukleotide sind kompatibel mit T4-RNA-Ligase 2-truncated oder truncated/K227Q-basierten Ligations-Reaktionen. Adenylierte Oligos werden z.B. in Next-Generation-Sequencing-Workflows (z. B. Vorbereitung kleiner RNA-Bibliotheken und Native Elongating Transcript Sequencing [NET-seq]) eingesetzt. Adenylierte RNA-Oligos können als Input für RNA-Zirkularisierungs-Workflows oder in einer Vielzahl von RNA-Studien verwendet werden.

## Produkt Performance

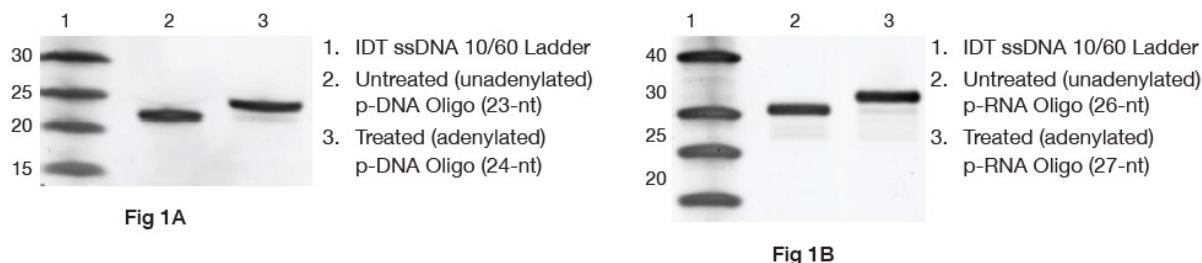


Abbildung 1. DNA- und RNA-Oligonukleotide werden mit dem Adenylator™ DNA/RNA 5'-Adenylierungskit effizient adenyliert. Phosphorylierte DNA- (Abb. 1A) und RNA-Oligonukleotide (Abb. 1B) wurden mit dem Adenylator™-Enzym adenyliert und auf Polyacrylamidgelen (20 % Acrylamid, 8 M Harnstoff, 1X TBE, gefärbt mit SYBR® Gold) sichtbar gemacht. Die unbehandelten Oligos (Spur 2) wurden effizient adenyliert (Spur 3), was durch die Bandenverschiebung belegt wird.

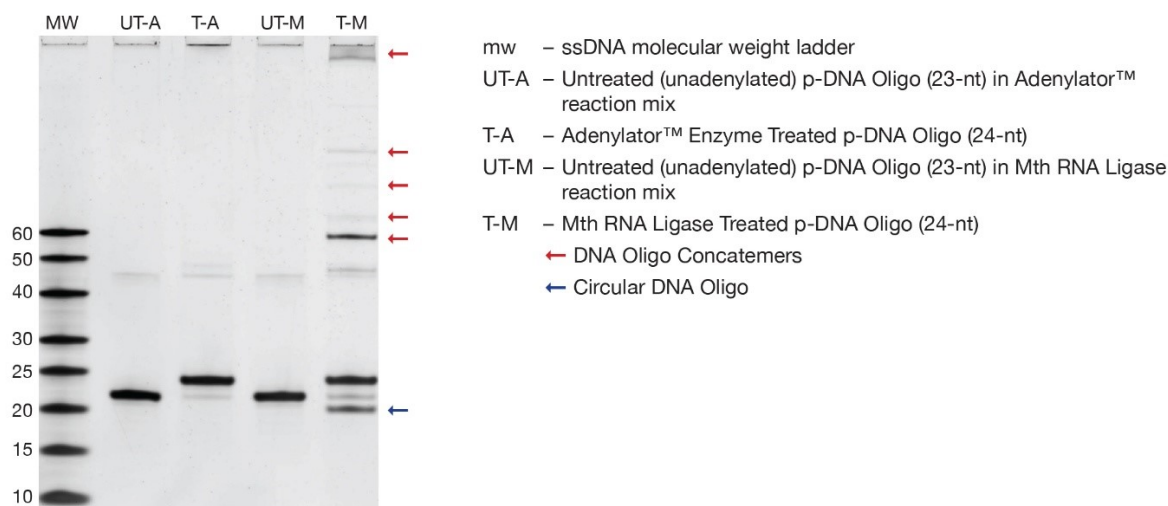


Abbildung 2. Adenylator™ Enzyme katalysiert keine unerwünschte Oligo-Selbstligation. Ein 23-nt-phosphoryliertes DNA-Oligo wurde mit Adenylator™ Enzyme und Mth RNA Ligase adenyliert und auf einem Polyacrylamidgel (20 % Acrylamid, 8 M Harnstoff, 1X TBE, gefärbt mit SYBR® Gold) sichtbar gemacht. Das mit Mth-RNA-Ligase adenylierte DNA-Oligo (T-M) enthält Oligo-Konkatemer (rote Pfeile) und zirkularisierte Oligo-Ligationsnebenprodukte (blauer Pfeil). Die Adenylierung mit Adenylator™ Enzyme (T-A) kann keine Substratkonkatemere bilden oder Oligo-Substrate zirkularisieren, was zu adenylierten Oligos ohne Nebenprodukte führt.

## FAQs - Häufig gestellte Fragen zu dem Adenylierungs-Kit

Was ist 5'-Adenylierung?

5'-Adenylierung ist der Prozess der Anlagerung einer Adenosinmonophosphat (AMP)-Gruppe an das 5'-Phosphat eines DNA- oder RNA-Moleküls.

Was sind typische Anwendungen von 5'-adenylierten Adaptern in der Sequenzierung?

5'-Adenylierte Linker werden häufig in small RNA-Seq-, miRNA-Seq- und anderen Next-Generation-Sequencing-Workflows verwendet, die auf der Adapterligation an 3'-Enden von RNA basieren. Durch die Adenylierung im eigenen Haus können Anwender benutzerdefinierte, voradenylierte Linker erstellen, die mit T4-RNA-Ligase 2 (truncated) kompatibel sind und eine Ligation ohne ATP ermöglichen. Dies reduziert die Bildung von Konkatemeren und anderen Ligationsartefakten. Mit dem Adenylator™ DNA/RNA 5'-Adenylation Kit können Anwender diese Linker effizient aus kostengünstigen 5'-phosphorylierten Oligos herstellen und erhalten so eine kostengünstige und flexible Alternative zur Bestellung preadenylierter Linker.

Welche zusätzlichen Protokolländerungen sind erforderlich, um eine effiziente 5'-Adenylierung von einzelsträngigen RNA-Oligonukleotiden zu ermöglichen?

Für die 5'-Adenylierung von einzelsträngigen RNA-Oligonukleotiden wird empfohlen, ScriptGuard™ RNase Inhibitor in die Reaktion zu geben, um die RNA-Integrität während des Prozesses zu schützen.

## Inhalt des Kits und Lagerbedingungen

### Kit Component Reagent Volume

**Adenylator™ Enzyme in 50% glycerol, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.25 M NaCl, 1 mM dithiothreitol, 0.1 mM EDTA and 0.1% Triton® X-100** 20 µl  
**10X Adenylation Reaction Buffer** 20 µl  
**10 mM ATP** 20 µl  
**50 µM Control Phosphorylated Oligo** 12 µl  
**RNase-Free Water** 500 µl

Wichtig Bei -20 °C in einem Gefrierschrank ohne Abtaufunktion lagern. Nicht bei -70 °C lagern.

### Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- 5'-monophosphoryliertes DNA- oder RNA-Oligonukleotid (100 µM)
- Isopropanol oder Ethanol (zur Salz-/Alkohol-Präzipitationsreinigung des adenylierten Reaktionsprodukts)
- 3 M NaOAc (pH 5,2), 5 M NaCl, 5 M LiCl oder 5 M NH<sub>4</sub>OAc (für die Salz-/Alkohol-Präzipitationsreinigung des adenylierten Reaktionsprodukts)
- 70 % Ethanol
- Optional: Farbiges Nukleinsäure-Kopräzipitationsmittel (z. B. Glycoblue™ Coprecipitant [Thermo Fisher] oder Pellet Paint® [Sigma Millipore])
- Optional: Materialien für die Polyacrylamid-Gelelektrophorese
- Optional: ScriptGuard™ RNase-Inhibitor (separat erhältlich), wenn RNA-Oligos adenyliert werden