

T4 RNA Ligase 2

Cellsript



1.000 Units
Artikel-Nr.: 150840 | Biozym

396,00 €*

*zzgl. MwSt. zzgl. Versandkosten

Beschreibung

Verpackung: 1.000 Units

Ligiert doppelsträngige Nicks und zirkularisiert RNA

T4 RNA Ligase 2 ist eine ATP-abhängige RNA-Ligase, die die Bildung von Phosphodiesterbindungen zwischen Nucleinsäuren katalysiert und eine hohe Aktivität gegenüber doppelsträngiger RNA (dsRNA) aufweist. T4 RNA Ligase 2 kann für die Nick-Ligation von doppelsträngigen Nucleinsäuremolekülen sowie für die Zirkularisierung von einzelsträngiger RNA (ssRNA) und End-Tagging-Workflows verwendet werden.

Die Vorteile:

- Effektive dsRNA-Nick-Ligation: Hochaktiv bei nicked dsRNA.
- Erzeugung von circRNA: Verwendung mit einem Splint-Molekül für die ssRNA-Zirkularisierung.

Produktbeschreibung

T4 RNA Ligase 2 ist eine ATP-abhängige RNA-Ligase, die RNA als Akzeptormolekül in geschnittenen doppelsträngigen (ds) Nucleinsäuremolekülen unter Verwendung von RNA oder DNA als Donormolekül und/oder als Splintmolekül* (Nick-Ligation) verwendet. Das Enzym katalysiert die Bildung einer Phosphodiesterbindung zwischen einem 5'-Phosphoryl-terminierten Nucleinsäure-Donor und einem 3'-Hydroxyl-terminierten Nucleinsäure-Akzeptor in einer templatabhängigen Weise. T4 RNA Ligase 2 ist hochaktiv bei geschnittener dsRNA und hat eine verminderte Aktivität bei einzelsträngigen (ss) RNA-Substraten.

T4-RNA-Ligase 2 kann für folgende Anwendungen verwendet werden:

- Nick-Ligation von ds-Nukleinsäuremolekülen mit einem RNA-Akzeptorstrang.
- ssRNA-Zirkularisierung in Verbindung mit einem Splint-Molekül.
- ssRNA-Endmarkierung in Verbindung mit einem Splint-Molekül

* Ein Splint-Molekül (wird auch als „Schiene“ bezeichnet) ist ein kurzes Oligonukleotid (DNA oder RNA), das als komplementärer Strang dient, um zwei getrennte RNA- oder DNA-Stränge für die Ligation exakt auszurichten.

Produkt Performance:

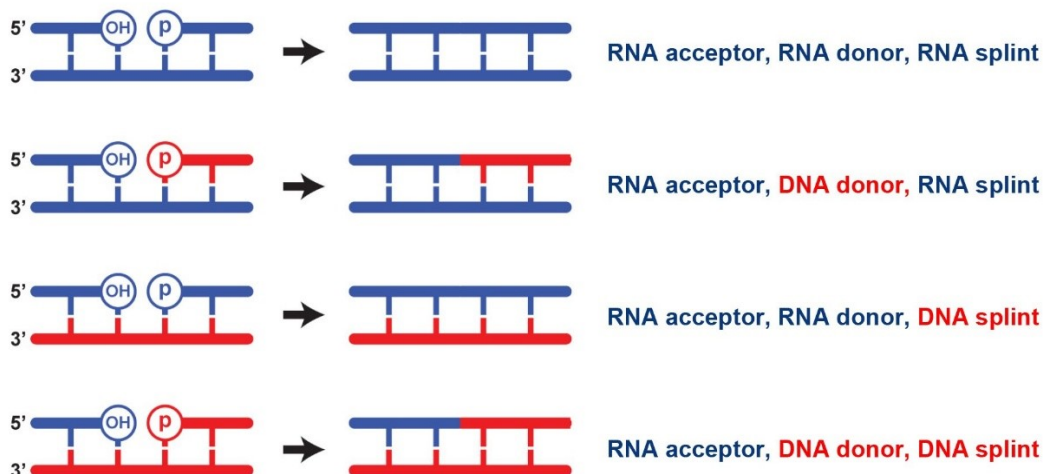


Abbildung 1. Nick-Ligation verschiedener doppelsträngiger Substrate durch T4-RNA-Ligase 2. T4-RNA-Ligase 2 nutzt RNA als Akzeptormolekül in geschnittenen doppelsträngigen Nukleinsäuremolekülen, wobei RNA (blau) oder DNA (rot) als Donormolekül und/oder als Splintmolekül für die Nick-Ligation verwendet wird.

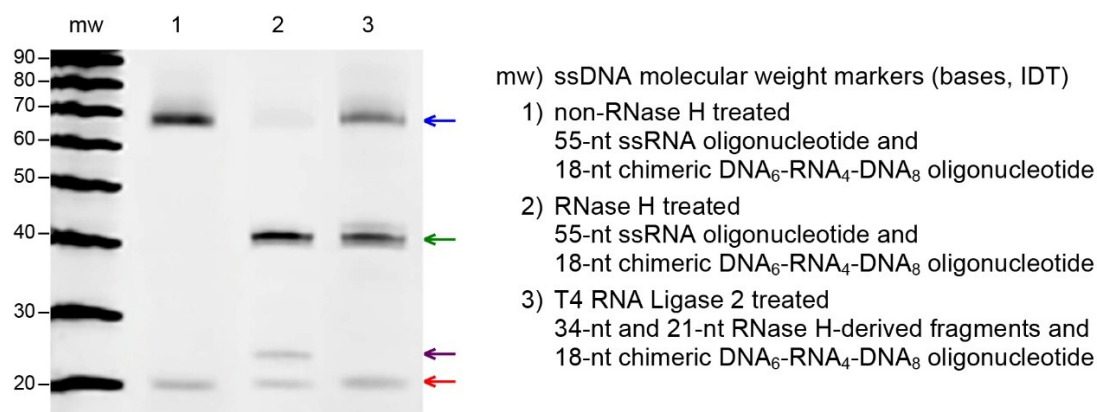


Abbildung 2. Ein 55-nt-ssRNA-Oligonukleotid (←) wurde mit einem 18-nt-chimären DNA₆-RNA₄-DNA₈-Einzelstrang-Oligonukleotid (←) hybridisiert und mit RNase H behandelt, was zur Spaltung des 55-nt-ssRNA-Oligonukleotids in 34-nt- (←) und 21-nt- (←) Fragmente führt. Die Reaktionsprodukte wurden gereinigt und mit T4-RNA Ligase 2 behandelt. Das 18-nt-chimäre DNA₆-RNA₄-DNA₈-Einzelstrang-Oligonukleotid fungiert als Nick-Ligation-Splint zur Wiederherstellung des 55-nt-

ssRNA-Oligonukleotids bei der Ligation.

FAQs - Häufig gestellte Fragen zur T4-RNA-Ligase 2

Welche Rolle spielt ATP bei der Aktivität von T4-RNA-Ligase 2?

ATP aktiviert das Enzym durch Bildung eines Enzym-AMP-Zwischenprodukts, das AMP an das 5'-Phosphat der Donor-Nukleinsäure überträgt und so die Ligation ermöglicht.

Warum ist T4-RNA-Ligase 2 bei nicked dsRNA im Vergleich zu ssRNA hochaktiv?

T4-RNA-Ligase 2 zeigt eine hohe Aktivität bei nicked doppelsträngiger RNA, da sie sich im Laufe der Evolution darauf spezialisiert hat, RNA-Duplexe zu reparieren und zu modifizieren. Im Gegensatz dazu hat sich T4-RNA-Ligase 1 so entwickelt, dass sie hauptsächlich auf einzelsträngigen Substraten wirkt. Diese evolutionären Unterschiede in ihren natürlichen zellulären Funktionen erklären, warum Ligase 2 Nicks in dsRNA effizient verschließt, Ligase 1 hingegen nicht.

Wie verbessert ein Splint-Molekül die Zirkularisierung von ssRNA?

Ein Splint-Molekül sorgt für eine komplementäre Basenpaarung, die die Enden der ssRNA korrekt ausrichtet und so eine effiziente Ligation ermöglicht.

Inhalt des Kits und Lagerbedingungen

Components

T4 RNA Ligase 2, 10 U/µl in 50% glycerol, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 M NaCl, 1 mM dithiothreitol, 0.1 mM EDTA and 0.1% Triton® X-100.

Volume

100 µl

Components

10X T4 RNA Ligase 2 Reaction Buffer 0.5 M Tris-HCl, pH 7.5, 20 mM MgCl₂.

Volume

500 µl

Components

10 mM ATP

Volume

200 µl

Components

100 mM Dithiothreitol (DTT)

Volume

100 µl

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