

产品概述

T4 DNA Ligase (T4 DNA 连接酶) 为 ATP 依赖性连接酶, 可高效催化双链 DNA 相邻核苷酸的 5' -磷酸末端与 3' -羟基末端之间形成磷酸二酯键, 修复缺刻。还可修补双链 DNA、双链 RNA 或 DNA/RNA 杂合物上的单链缺口, 但不能催化全单链核苷酸连接。其平末端连接效率显著高于 *大肠杆菌* DNA 连接酶, 同时支持粘性末端连接、RNA-DNA 杂交链连接及缺刻修复。本品无核酸外切酶或缺刻平移酶污染, 适用于克隆、NGS 接头连接、连接介导 PCR 等分子生物学实验。 **仅用于科研用途。**

试剂组成

组分名称	BR3P301-65 (60 KU)	BR3P301-67 (300 KU)	BR3P301-68 (600 KU)
T4 DNA Ligase	100 μ L	500 μ L	500 μ L $\times$ 2
5 $\times$ Ligase Buffer	140 μ L	700 μ L	700 μ L $\times$ 2

保存条件

-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C 存储。

注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。
2. 使用前请先混匀。
3. 请使用无核酸酶污染的耗材, 并对实验区域定期进行清理。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法

1. 应用于文库构建

1.1 在文库构建过程中, 使用 5 $\times$ Ligase Buffer, 按终浓度 18~36 U/ μ L 的量加入 T4 DNA Ligase, 也可根据实验具体情况调整用量。

1.2 反应条件: 23 $^{\circ}$ C, 15~20 min。

1.3 连接结束后一般用磁珠进行产物纯化。

2. 应用于连接质粒载体和外源 DNA 片段

2.1 将各组分试剂在室温或冰面上解冻后, 颠倒或用手指轻弹混匀后瞬时离心, 置于冰上备用。按照表 1 配制反应体系:

表 1. 连接反应体系

组分名称	浓度/体积	反应条件
载体 DNA	1~10 ng/ μ L	热盖: off 16 $^{\circ}$ C, 1~24 h
插入 DNA 片段	1~10 ng/ μ L	
5 $\times$ Ligase Buffer	4 μ L	
T4 DNA Ligase	3 μ L	
Nuclease-free water	Up to 20 μ L	

备注: 载体 DNA 与插入 DNA 片段的摩尔比: 对于不同的载体 DNA 与插入 DNA 片段, 要取得成功的连接, 应建立不同的摩尔比例的反应体系。在大多数情况下, 插入 DNA 片段的摩尔数应控制在载体 DNA 摩尔数的 3-10 倍。