

T4 DNA Ligase

(使用说明书 Ver.1.1.0)

产品特点

T4 DNA Ligase是从表达T4 DNA Ligase基因的大肠杆菌经诱导表后分离纯化而来的。它催化相邻DNA链的的5' -磷酸末端和3' 羟基末端以磷酸二酯键结合反应。该酶催化平滑末端或粘性末端DNA的连接，修复双链DNA、RNA、DNA/RNA杂交中的单链中的单链切口。

产品货号：

JSR-E-401



扫描二维码了解更多产品信息

目录 Contents

产品组分	1
注意事项	1
适用范围	1
缓冲液组分	1
反应体系	1
反应循环的设置	2
转化设置	2
提高转化效率	2

产品组分

试剂盒组成	JSR-E-401-1	JSR-E-401-2	JSR-E-401-3	保存
T4 DNA Ligase (600 U/μl)	6000U	12000U	36000U	-20°C
10xLigation Buffer	150μl	150μl	150μl*3	-20°C
50% PEG 4000	150μl	150μl	150μl*3	-20°C

注意事项

- ✧ 产品售出后一年内提供质保，试剂已通过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ✧ 本产品仅供研究使用，需由专业人员操作。试剂盒中的部分试剂具有刺激性，使用时请佩戴手套和护目镜，以确保实验人员安全及结果准确性。
- ✧ 储存:-20°C 保存,避免反复冻融。

适用范围

- 1.DNA片段和载体DNA快速连接;
- 2.限制酶切片段的克隆;
- 3.将DNA片段与Linker或Adaptor连接。

缓冲液组分

- ✧ 酶贮存缓冲液:20mM Tris-HCl(pH7.5), 0.1 mM EDTA,1mM DTT, 50 mM KCl,50% glycerol。
- ✧ 10xLigation Buffer: 400 mM Tris-HCl,100 mM MgCl₂,100 mM DTT, 5 mM ATP(PH7.8), 其他成分。

反应体系:(以20ul反应体系为例)

组成	标准反应管	阳性对照管
Linear Vector DNA	20~100ng	20~100ng
Insert DNA	1:1 to 5:1 molar ratio over vector	/
对照插入DNA片段	/	1μl
10xLigation Buffer	2ul	2ul
50% PEG 4000 (即10xPEG Enhancer)	粘端连接不加, 平端连接加2ul	粘端连接不加, 平端连接加2ul
T4 DNA Ligase (600 U/μl)	粘端连接加0.2μl, 平端连接加1μl	粘端连接加0.2μl, 平端连接加1μl
加去离子水至终体积	20ul	20ul

反应循环的设置

- 1.粘端连接:混匀后22°C反应10分钟;
- 2.平端连接:混匀后22°C反应2小时或16°C过夜。

转化设置

每50ul化转感受态混合5ul左右的连接产物;每50ul电转感受态混合1-2ul连接产物。

提高转化效率

- 1.普通连接步骤后,于65 °C温浴10min或70°C温浴5min 加热失活T4 DNA Ligase。
- 2.纯化DNA,使用DNA纯化试剂盒或酚氯仿法纯化。
- 3.如果在20ul反应体系中使用T4 DNA Ligase超过240U,则最好纯化连接产物后转化。