

T4 DNA Ligase

试剂盒组成、包装:

组成	50U(170701)	100U(170702)	300U(170703)
T4 DNA ligase	50U	100U	300U
10 × Ligation Buffer	40μl	80μl	80μl × 2

浓度: 5U/μl

储运温度: -20℃ (保存6个月)

制品说明: 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。

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。

酶贮存缓冲液:

20mM Tris-HCl (pH7.5), 0.1 mM EDTA, 1mM DTT, 50 mM KCl, 50% glycerol。

10×Ligation Buffer:

400 mM Tris-HCl, 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 5 mM ATP(PH7.8), 其他成分。

建议连接反应体系: (以 10 μl 反应体系为例)

	标准反应管	阳性对照管
Vector	μl	μl
PCR 产物	n μl **	/
对照插入 DNA 片段	/	1μl
T4 DNA 连接酶(5U/μl)	2~5U	2~5U
10×Ligation Buffer	1μl	1μl
加去离子水至终体积	10μl	10μl

反应循环的设置:

粘端连接: 22℃ 反应 10 分钟(可根据需要延长到 1 小时); 也可以 16℃ 反应 1-5 小时。

平端连接: 22℃ 反应 2 小时或 16℃ 过夜。