

T4 DNA Ligase

T4 DNA连接酶

目录号: RT406

储存条件: -20°C可保存1年

浓度: 3 U/μl

来源: 重组大肠杆菌

产品内容:

产品组成	RT406
T4 DNA Ligase	60 U
10×T4 DNA Ligation Buffer	30 μl

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

储存条件

-20°C保存, 避免反复冻融, 10×T4 DNA Ligation Buffer建议分装使用。

产品概述

本酶在以ATP作辅酶的情况下, 可以催化相邻DNA链的5'磷酸基团和3'羟基之间的连接反应。平末端和粘性末端均可, 此酶也可以催化双链RNA与双链DNA连接, 但不能催化单链核酸的连接。

活性单位定义

1个Weiss活性单位是指在ATP-PPi交换反应中, 37°C、20 min内将1 nmol [32PPI]转换为Norit可吸收形式所需的酶量。1个Weiss单位相当于约200个粘性末端连接单位。1个粘性末端连接单位: 20 μl反应体系(50 mM Tris-HCl pH7.5), 10 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 1 mM ATP, 25 μg/ml BSA, 0.12 μM。

(300 μg/ml)的5' DNA末端)中, 在16°C、30 min内50%连接Hind III酶切的Lambda DNA产物所需要的酶量。

使用示例

1. 先将10×T4 DNA Ligation Buffer 在冰上融化, 并进行短暂的离心。
2. 以10 μl连接体系示例, 在微量离心管中加入以下各种成分:

组成成分	体积
目的DNA片段	约0.1 pmol
载体DNA	约0.01 pmol
10×T4 DNA Ligation Buffer	1 μl
T4 DNA Ligase	0.5-1 μl
ddH ₂ O	补足至10 μl

3. 16°C连接过夜。
4. 将3-5 μl连接产物转化至100 μl感受态细胞中。

注意事项

1. 载体DNA和连接片段的摩尔比: 对于不同的载体和DNA片段, 要取得成功的连接, 应分别建立具有不同摩尔数比例的连接反应。在大多数情况下, DNA片段的摩尔数应控制在载体DNA摩尔数的3-10倍。
2. 10×T4 DNA Ligation Buffer中含ATP, 为避免ATP的降解, 建议解冻后的10×T4 DNA Ligation Buffer分装成小包装并在-20°C保存。
3. 平末端的载体与DNA片断连接时, 应首先对载体进行去磷酸化, 以防止载体自身环化。
注意: 如果向连接反应体系中加入PEG可以促进平末端的连接, 但PEG可能导致cDNA片段克隆产物出现串联体并抑制包装反应。

附

10×T4 DNA Ligation Buffer: 400 mM Tris-HCl (pH7.8), 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 5 mM ATP.

储存buffer: 20 mM Tris.HCl,(pH7.5), 50 M KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50 % (v/v)甘油。