

版本号: NG210831

# TIANSeq T4 DNA Ligase (Rapid)

## T4 DNA连接酶 (快速)

目录号: NG201

### 产品内容

| 产品组成                             | NG201-01    | NG201-02        |
|----------------------------------|-------------|-----------------|
| T4 DNA Ligase (600 U/ $\mu$ l)   | 24,000 U    | 240,000 U       |
| 5 $\times$ Rapid Ligation Buffer | 500 $\mu$ l | 2 $\times$ 1 ml |
| 10 $\times$ Ligation Buffer      | 200 $\mu$ l | 2 $\times$ 1 ml |

### 储存条件

-30~-15 $^{\circ}$ C保存。保质期: 一年。

---

## 产品简介

T4 DNA Ligase 在ATP作为辅助的情况下，可以特异性催化双链DNA或者双链RNA的5'磷酸和3'羟基之间形成磷酸二酯键。本产品对与粘性末端和平末端的双链核酸片段均有较高的连接活性，同时，对于双链DNA，双链RNA或者DNA-RNA杂交链中的缺刻（Nick）也有修复作用。

但是本产品无法催化单链核酸之间的连接。

## 产品特点

**酶活性高：**酶比活性高，反应重复性好。

**连接快速：**10 min即可完成连接反应，省时省力。

**适用性广：**无论是粘性末端还是平末端，本产品均有较高的连接活性；无论是DNA连接还是RNA连接，本产品都有很好的适用性。

## 适用范围

1. 在二代测序（NGS）应用中，主要用于文库构建过程中的接头连接；
2. DNA片段与载体连接；
3. 其他需要进行双链核酸连接的实验。

## 产品来源

重组*E.coli*菌株,含有从T4噬菌体中克隆的连接酶基因。蛋白分子量大小约为：55.3 kDa。

## 活性单位

在1×DNA Ligase Buffer反应液中，在50 μl反应体系下，23℃、30 min内使100 ng粘性末端双链DNA片段连接50%时所需要的酶量定义为1个活性单位（U）。

---

## 使用示例

使用之前需要将T4 DNA Ligase (600 U/μl) 置于冰上备用；5×Rapid Ligation Buffer或10×Ligation Buffer解冻后，混匀，简短离心后置于冰上备用。

## 在NGS文库构建过程中

在NGS文库构建过程中，一般使用5×Rapid Ligation Buffer，按终浓度30~60 U/μl的量加入T4 DNA Ligase。也可根据实验具体情况来调整用量。

反应条件：20~25℃，15 min。

连接结束以后一般通过磁珠进行产物纯化。

## 在载体构建过程中

1. 按下表所示配制连接体系。

| 组分                                             | 体积 (μl)     |
|------------------------------------------------|-------------|
| 5×Rapid Ligation Buffer或<br>10×Ligation Buffer | 1×          |
| 载体DNA                                          | 1~10 ng/ μl |
| DNA片段                                          | 1~10 ng/ μl |
| T4 DNA Ligase (600 U/ μl)                      | 0.5~1 μl    |
| ddH <sub>2</sub> O                             | 补足至20 μl    |

**注意：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。

- 将上表中反应体系混匀，并简短离心，连接反应条件根据所选Buffer的不同而有所不同；如果选择5×Rapid Ligation Buffer，则反应条件为25℃，10 min；如果选用10×Ligation Buffer，则反应条件为16℃，10~12 h。
- 取0.1~10 ng连接产物进行感受态细胞转化。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

## 酶蛋白性质描述

| 性质      | 蛋白描述            |
|---------|-----------------|
| 蛋白纯度    | >95%            |
| 酶活性     | 300,000 U/mg    |
| 核酸外切酶   | 6000 U酶中， <1.0% |
| 核酸内切酶   | 6000 U酶中， 未检出   |
| 宿主基因组污染 | 6000 U酶中， <10拷贝 |

### 注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 5×Rapid Ligation Buffer中含ATP，为避免ATP的降解，建议解冻后的5×Rapid Ligation Buffer分装成小包装并在-30~-15℃保存。
2. 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。
3. 5×Rapid Ligation Buffer中含有PEG，在后续感受态细胞转化过程中，PEG的存在会抑制电转感受态细胞的转化效果，为提高此操作的成功性，可按下面两种方法来进行：(1)通过核酸纯化试剂盒对连接产物纯化后再进行转化操作；(2)利用ddH<sub>2</sub>O或者TE溶液对连接产物稀释10~100倍。稀释时需要注意的是要尽量保证用于转化的DNA连接产物量落在0.1~10 ng之间。

## 酶保存液成分

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50%甘油, pH 7.5 @ 25℃。