

## T4 DNA Ligase

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FL101

浓度: 200 units/ $\mu$ l

保存:  $-20^{\circ}\text{C}$ 保存两年。

### 产品说明

该酶从表达T4 DNA连接酶基因的大肠杆菌中纯化而来,催化双链DNA或RNA的5'-磷酸末端和3'-羟基末端形成磷酸二酯键。该酶适用于平末端或粘性末端DNA的连接,修复双链DNA, RNA, DNA/RNA杂交链中的单链切口。

### 产品内容

T4 DNA Ligase (200 units/ $\mu$ l), 5 $\times$ T4 DNA Ligase Buffer [250 mM Tris-Cl (pH 7.5), 50 mM  $\text{MgCl}_2$ , 5 mM DTT, 5 mM ATP, 125  $\mu\text{g/ml}$  BSA, Enhancer ]。

### 酶储存缓冲液

10 mM Tris-Cl (pH 7.4), 50 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% Glycerol。

### 单位定义 (粘性末端活性单位)

在20  $\mu$ l连接反应体系, 0.12  $\mu\text{M}$  (200  $\mu\text{g/ml}$ )的5'-末端浓度条件下,  $16^{\circ}\text{C}$ 反应30分钟,使50%的经Hind III消化的 $\lambda$ DNA片段连接所需的酶量定义为一个粘性末端活性单位(U)。

### 质量控制

SDS-PAGE检测纯度大于99%,经检测无外源核酸酶活性。

### 应用

- 限制酶切片段的克隆。
- Linker或Adaptor与DNA片段的连接。

### 建议的连接反应

Component	Volume	Final concentration
Vector	Variable	as required
Insert	Variable	as required
5 $\times$ T4 DNA Ligase Buffer	2 $\mu$ l	1 $\times$
T4 DNA Ligase	0.5-1 $\mu$ l	100-200 units
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	10 $\mu$ l	-

### 反应条件

粘端连接:  $25^{\circ}\text{C}$ 反应10分钟。

平端连接:  $25^{\circ}\text{C}$ 反应2小时或 $16^{\circ}\text{C}$ 过夜。

粘端/平端连接:  $25^{\circ}\text{C}$ 反应2小时。

### 注意事项

- 建议插入片段DNA与载体DNA的摩尔比为3:1-10:1。
- 5 $\times$ T4 DNA Ligase Buffer中有少量沉淀或浑浊,属于正常现象,使用前请充分混匀即可,对实验没有影响。
- T4 DNA Ligase在冰上长时间放置不稳定,建议在使用时取出,用后立即放回 $-20^{\circ}\text{C}$ 。

本产品仅供研究,不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

