5'App-T4 DNA Ligase

产品目录号：RK20510

产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1 10,000 U	规格-2 50,000 U
5'App-T4 DNA Ligase (200,000 U/mL)	RM20507	50 μL	250 μL
10X T4 DNA Ligase Reaction Buffer without ATP	RM20824	500 μL	500 μL
50% PEG8000	RM20133	1.25 mL	1.25 mL

产品说明

5'App-T4 DNA Ligase 是 T4 DNA 连接酶的缺失腺化功能突变体，可特异性地催化预腺苷酸化的双链 DNA 的 5’-磷酸基团与 3’-羟基之间形成磷酸二酯键，该催化反应不需 ATP 作为辅助因子，但是需要预腺苷酸化的底物。该酶非常适用于 NGS 建库过程中 DNA 片段和 5’预腺苷酰酸化接头的连接，可以显著减少片段自连（嵌合体形成）。

产品来源

T4 噬菌体来源的 T4 DNA Ligase 基因在大肠杆菌中重组表达并经过多步纯化精制而成。

活性定义

200 U 指在 20°C 条件下，100 μL 反应体系中，15 min 内将 50%的 0.25 μM 双链 DNA 连接到预腺苷化 DNA 末端所需要的酶量。

酶存储液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C

保存温度

-20°C

反应条件

1X T4 DNA Ligase Reaction Buffer without ATP

1X T4 DNA Ligase Reaction Buffer without ATP 组成

50 mM Tris-HCl,10 mM $MgCl_2$, 10 mM DTT, pH 7.5 @ 25°C

热失活

65°C 加热 10 min

操作说明

1. 按下表所示在冰上加入各反应组分（以 50 μL 反应体系为例）：

组分	用量
10X T4 DNA Ligase Reaction Buffer without ATP*	5 μL
50% PEG8000 **	4 μL
DNA 片段	20 μL
App-Adapter	2 μL
5'App-T4 DNA Ligase (200,000 U/mL) ***	2 μL
ddH_2O	Up to 50 μL

注 1：*, 10X T4 DNA Ligase Reaction Buffer without ATP 在融解时，如果出现少量沉淀属正常现象，请待溶液恢复至室温，震荡混匀后使用。

注 2：，PEG8000 可根据自身实验条件选择加入投放比例。**

注 3：*, 5'App-T4 DNA Ligase (200,000 U/mL) 应最后加入反应体系中。**

E-mail:cn.market@abclonal.com
TEL:400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

2. 各反应组分混匀并短暂离心收集溶液到管底；
3. 置于 20℃ 孵育 15 min；
4. （可选）65℃ 加热 10 min 以热失活 5'App-T4 DNA 连接酶；

注：此步骤非必须，如果残留的 T4 DNA Ligase 会影响后续实验，可以对酶进行热失活处理。