产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1 80,000 U	规格-2 400,000 U
T4 DNA Ligase (2,000,000 U/mL)	RM21500	40 μL	200 μL
10X T4 DNA Ligase Reaction Buffer	RM20108	500 μL	500 μL

产品说明

T4 DNA Ligase (T4 DNA 连接酶)，可催化双链 DNA 或 RNA 的 5'-磷酸基团与 3'-羟基之间形成磷酸二酯键，该催化反应需 ATP 作为辅助因子。该酶可以催化粘性末端分子间或平末端分子间的连接，也能修复双链 DNA 或 DNA-RNA 杂交双链上的单链 DNA 切口，同时 T4 DNA 连接酶会封闭这些 DNA 底物的缝隙。

本品适用于限制性内切酶酶切片段、Linker 或 Adapter 等的连接，也可以用于切刻修复及 Ligase 介导的 RNA 检测。

保存温度

-20℃

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

1 活性单位(U):指λDNA(经 HindIII 酶切，5' 粘性末端 DNA 浓度 0.12 μM, 300 μg/mL)在 20 μL 体系的 1X T4 DNA Ligase Reaction Buffer 中，16℃ 反应 30 min，连接 50% DNA 片段所需的酶量。

反应条件

1X T4 DNA Ligase Reaction Buffer

1X T4 DNA Ligase Reaction Buffer组成

50 mM Tris-HCl, 10 mM $MgCl_2$, 10 mM DTT, 1 mM ATP, pH 7.5 @ 25℃

酶储存液

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

热失活

65℃ 加热 10 min

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.

操作说明

1、按下表所示在冰上加入各反应组分（以 20 μL 反应体系为例）

组分	使用量
10X T4 DNA Ligase Reaction Buffer*	2 μL
载体 DNA (4 kb)	50 ng (0.02 pmol)
插入 DNA 片段（1 kb)**	37.5 ng (0.06 pmol)
T4 DNA Ligase***	1 μL
ddH_2O	Up to 20 μL

*，注：10X T4 DNA Ligase Reaction Buffer 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：连接反应按载体：插入片段摩尔比为 1：3 进行。

***，注：T4 DNA Ligase 应最后加入反应体系中。

2、各反应组分混匀并短暂离心收集溶液到管底。

3、置于 16℃ 反应过夜或室温（20 - 25℃）连接 10 min。

4、（可选）65℃ 加热 10 min 以热失活 T4 DNA 连接酶。

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

5、将反应产物置于冰上，取 1-5 μL 连接产物加入到 50 μL 感受态细胞中，进行转化。

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.