

**描述:** 9 N DNA 连接酶能够催化磷酸二酯键的形成, 使与同一互补靶 DNA 链杂交的两条相邻寡核苷酸链的 5'-磷酸末端和 3'-羟基末端通过磷酸二酯键相连。该连接酶从极度耐热的海底嗜热古菌 (Thermococcus sp.) 9 N 菌株中克隆的连接酶基因, 经遗传改造使得该酶具有更高的热稳定性。该酶在 45°C-70°C 范围内均有活性。

#### 特点:

- (1) 可在高温条件下, 连接 DNA 链上的切刻位点。
- (2) 具有极高的耐热性, 适用 LCR 反应 (Ligase Chain Reaction)。
- (3) 适用 MLPA 反应 (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)。

#### 组分

名称	4000U
9N DNA Ligase (40 U/μl)	100 μl
10X 9N DNA Ligase Buffer	500 μl

**储存:** -20°C 可保存 2 年。

10X 9N DNA Ligase Buffer: 500 mM Tris-HCl, 500mM KCl, 6mM ATP, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7.5。

**活性定义:** 1 单位指 20 μl 反应体系中, 50°C 条件下, 15 分钟内能使 50% 的 1pmol 的接头片段 (12 bp 粘性末端) 发生连接所需要的酶量。

#### 使用说明

双链 DNA 粘性末端	2-10pmol
9N DNA Ligase (40 U/μl)	1 μl
10X 9N DNA Ligase Buffer	2 μl
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 ul

45~70°C 孵育 30min。

#### 使用前必读注意事项:

- (1) 根据连接底物 DNA 的粘性末端大小, 来决定反应温度, 通常反应温度设置 45-70°C。
- (2) 对于粘性末端 < 12bp 的情况下, 连接效率会下降, 当粘性末端 < 4bp 时几乎不连接。
- (3) 该酶在 95 度加热 5min 后, 酶活几乎无损失。
- (4) 该酶兼容绝大多数 PCR 反应缓冲液。
- (5) 该酶需要 0.5mM ATP 作为连接辅助因子。