

T4 DNA 连接酶

Cat. No.: D0101 Size: 20 KU Store at: -20°C

描述: T4 DNA Ligase 可催化相邻 DNA 链的 5'-P 末端和 3'-OH 末端以磷酸二酯键结合的反应, 需 ATP 作辅酶, 不仅可以催化粘性末端之间或平滑末端之间的 DNA 的连接, 也可以催化 DNA 与 RNA 之间以及少数 RNA 之间的连接。可应用于在粘性末端或平末端连接双链 DNA 分子, 也可应用于修补双链 DNA、RNA 或 DNA RNA 杂交体上的缺口。

组分

名称	20 KU
T4 DNA Ligase(200 U/μl)	100 μl
10×T4 Ligase Buffer	250 μl

储存: -20°C 可保存 2 年。

活性定义: 16°C 反应 30 分钟条件下, 使 1pmol 的粘性末端 DNA 连接所需要的酶量定义为 1Unit。

失活: 65°C, 10 分钟。

10×T4 Ligase Buffer: 500 mM Tris-HCl, pH 7.5, 50 mM MgCl₂, 25mM DTT, 5mM ATP.

操作方法

1. 按以下组分配制反应体系

10×T4 Ligase Buffer	2 μl
载体	50 ng(0.2-1pmol)
插入片段	1-50 ng(0.2-10pmol)
T4 DNA Ligase(200 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 20 μl

注意: 两个片段的连接时, 通常载体与插入片段的摩尔比为 1:3 (但该比例并非绝对严谨, 在 1:1-1:10 范围内均可获得理想的实验结果), 提取根据片段大小与浓度, 计算其摩尔浓度。

2. 如为粘末端连接反应, 22°C (16-37°C) 连接 30min, 连接产物直接用于转化 (或冻存于-20°C)。