

T4 DNA Ligase 产品说明书

产品信息

产品名称	Cat#	规格
T4 DNA Ligase, (400 U/μl)	M125A01	100 μL
	M125A02	250 μL
	M125A03	1 mL

产品描述

T4 DNA Ligase 可催化 dsDNA 平末端或粘性末端相邻核酸的 5'磷酸末端和 3'羟基末端形成磷酸二酯键，还可催化 RNA 和双链中的 ssDNA 或 RNA 链连接，但不能催化全单链核苷酸连接。适用于标记 RNA 3'-末端，环化 RNA 和 DNA 寡聚核苷酸以及克隆 cDNA 等核酸操作。

产品组分

组分	M125A01	M125A02	M125A03
10 × Ligase Buffer	1mL	2.5mL	10mL
T4 DNA Ligase (400 U/μl)	100 μL	250 μL	1mL

产品来源

从一种携带有高表达 T4 DNA 连接酶基因的 E.coli 中提纯制备的。

运输和储存

本产品干冰运输，可在-30 ~ -15℃保存两年。

单位定义

在 20 μl 的连接反应体系中，6 μg 的 λDNA-HindIII 的分解物在 16℃下反应 30 min 时，有 50%以上的 DNA 片段被连接所需要的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

适用范围

1. DNA 片段和载体 DNA 的连接。
2. DNA 片段和 Linker 或 Adaptor DNA 的连接。

注意事项

- ◆ 本产品仅限科学研究用，不得用于临床诊断或治疗。
- ◆ 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验案例：DNA 片段和载体 DNA 的连接

1、在微量离心管中配置连接反应体系：

灭菌蒸馏水	To 10 μ L
10 $\times$ Ligase Buffer	1 μ L
插入片段 ^a	0.3 pmol
载体 DNA ^b	0.03 pmol
T4 DNA Ligase (400 U/ μ L)	1 μ L

a：插入片段与载体的摩尔比应在 3:1 - 10:1 之间。

b：平末端载体与 DNA 片段进行连接时，应首先将载体进行去磷酸化处理，以防止其自身环化。

2、16℃过夜反应

3、连接产物转化

1) 在冰上解冻克隆用的化学感受态细胞(如：DH5 α Competent cell)

2) 取 10 μ L 连接产物加入到 100 μ L 感受态细胞中，轻弹管壁混匀(请勿振荡混匀)，冰上静置 30 min。（连接产物转化体积最多不应超过所用感受态细胞体积的 1/10。）

3) 42℃水浴热激 45 sec 后，立即置于冰上冷却 2 - 3 min。

4) 加入 900 μ L SOC 或 LB 培养基(不添加抗生素)，37℃摇菌 1 h(200 - 250 rpm)。

5) 将相应抗性的 LB 平板固体培养基在 37℃培养箱中预热。

6) 5,000 rpm(2,400 $\times$ g)离心 5 min，弃掉 900 μ L 上清。用剩余培养基将菌体重悬，用无菌涂布棒在含有正确抗性的平板上轻轻涂匀。

7) 37℃培养箱中倒置培养 12 - 16 h。