

T4 DNA Ligase (for NGS)

T4 DNA连接酶

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LL101

保存: 在-18°C及其以下温度下保存两年。

浓度: 5 Weiss U/ μ l

产品说明

本产品由重组T4 DNA Ligase基因在大肠杆菌中经诱导表达、纯化而成, 分子量大小约为56 kDa。可以特异性催化双链DNA或者双链RNA的5' 磷酸末端和3'羟基末端之间形成磷酸二酯键。本产品对于粘性末端和平末端的双链核酸片段均有较高的连接活性, 对于双链DNA、双链RNA或者DNA-RNA杂交链中的缺刻 (Nick) 也有修复作用。

适用范围

- 主要用于NGS文库构建过程中的接头连接。
- 也可用于限制酶切片段的克隆。

产品组成

Component	LL101-01	LL101-02
T4 DNA Ligase (for NGS)	200 μ l	1 ml
10 $\times$ T4 DNA Ligase Buffer	400 μ l	2 $\times$ 1 ml
50% PEG Buffer	800 μ l	4 $\times$ 1 ml

活性定义

在20 μ l连接反应体系中, 0.12 μ M (200 μ g/ml) 的5'-末端浓度条件下, 16°C反应30分钟, 使50%的经HindIII消化的 λ DNA片段连接所需的酶量定义为一个粘性末端活性单位 (CEU)。1个Weiss Unit等于200 CEU, 本产品的活性单位以Weiss Unit计。

质量控制

核酸内切酶活性: 在50 μ l反应体系中, 12 Weiss U酶与1 μ g质粒经37°C孵育4小时, RFI型转变为RFII型的比例小于10%。

核酸外切酶活性: 在50 μ l反应体系中, 12 Weiss Units酶与1 μ g 线性双链DNA片段经37°C孵育4小时, 电泳检测DNA无降解。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl pH7.5, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 50% (v/v) glycerol

10 $\times$ T4 DNA Ligase Buffer

400 mM Tris-HCl pH7.8, 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 5 mM ATP

Component	Volume
平端或者末端加A的ds-DNA	$\leq$ 1 μ g
Adapter	Variable
10 $\times$ T4 DNA Ligase Buffer	10 μ l
50% PEG Buffer	Variable
T4 DNA Ligase (for NGS)	5 μ l
Nuclease-free Water	Variable
Total volume	50 μ l



反应条件: 25℃反应15分钟; 75℃加热10分钟终止反应。

失活或抑制

65℃加热10分钟或70℃加热5分钟此酶均可失活; 浓度大于200 mM NaCl或KCl强烈抑制此酶活性。

注意事项

- T4 DNA Ligase (for NGS) 在冰上长时间放置不稳定, 建议在使用时取出, 用后立即放回-20℃。
- 为避免ATP的降解, 建议解冻后的10×T4 DNA Ligase Buffer分装后并在-20℃保存。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202208

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

