

T4 DNA Ligase (Rapid)

使用说明书

【目录号】

HRK-CC301

【组分说明】

试剂成分	200000U
T4 DNA Ligase (1000000U/ml)	200 μ l
2×Rapid Ligation Buffer	2000 μ l

【产品描述】

T4 DNA 连接酶可以催化双链 DNA 或 RNA 中相邻的 5'磷酸酯和 3'羟基末端之间的磷酸二酯键的形成。该酶可以连接平末端和粘性末端，并修复双链 DNA 或 DNA/RNA 杂合物上的单链缺口。可用于二代建库接头连接等快速连接实验。

【产品来源】

具有 T4 DNA 连接基因的大肠杆菌菌株。

【活性单位】

一个活性单位是指 20 μ l 体系下，16℃连接 20 分钟，50%以上的 λ DNA 的 HindIII 片段（终浓度为 0.12 μ M，300 μ g/ml）被连接所需要的酶量定义为 1 个单位。

【存储条件】

- 10mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% 甘油, pH7.5 @ 25° C。
- 存储温度：-20℃ $\pm$ 5℃。
- 失活温度：65℃，10 分钟。

【使用说明】

末端修复加 A 纯化产物连接（以 Illumina 测序平台，50ul 体系为例）：

（1）向 200 μ l PCR 管中加入以下试剂（冰上操作）：

成分	体积
2×Rapid Ligation Buffer	25 μ l
Illumina Adapter(15uM)	5 μ l
T4 DNA Ligase	2 μ l
末端修复加 A 纯化 DNA	18 μ l

（2）用枪头将上述溶液轻轻吹吸混匀，短暂离心，使所有组分收集到管底。

（3）将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，热盖打开，22℃ 15min，4℃保存。

（4）使用纯化磁珠进行产物纯化，并进行下一步反应。

【产品质控】

- （1）通过 SDS-PAGE 检测，纯度大于 95%。
- （2）没有核酸外切酶，核酸酶，RNA 酶污染。
- （3）通过 PCR 检测不含有宿主 DNA。