



T4 DNA Ligase

Cat.NO.: ZC223

目录编号	产品名称	产品规格
<input type="checkbox"/> ZC223-1	T4 DNA Ligase	50U
<input type="checkbox"/> ZC223-2	T4 DNA Ligase	100U
<input type="checkbox"/> ZC223-3	T4 DNA Ligase	300U

储存: -20°C 保存, 避免反复冻融. 活性: 5 weiss u/ μ l

产品介绍:

T4 DNA Ligase 是从表达T4 DNA Ligase 基因的大肠杆菌经诱导表后分离纯化而来的。它催化相邻DNA链的的5' -磷酸末端和3' 羟基末端以磷酸二酯键结合反应。该酶催化平滑末端或粘性末端DNA的连接, 修复双链DNA、RNA、DNA/RNA杂交中的单链中的单链切口。

适用范围:

1. DNA片段和载体DNA快速连接;
2. 限制酶切片段的克隆;
3. 将DNA片段与Linker或Adaptor连接。

酶贮存缓冲液: 20mM Tris-HCl (pH7.5), 0.1 mM EDTA, 1mM DTT, 50 mM KCl, 50% glycerol。

10×Ligation Buffer: 400 mM Tris-HCl, 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 5 mM ATP(PH7.8), 其他成分。

产品组成

组成	ZC223-1(50U)	ZC223-2(100U)	ZC223-3(300U)
T4 DNA Ligase	50U(10ul)	100U(20ul)	300U(20ul×3)
10×Ligation Buffer	150ul	150ul	150ul×3
50% PEG 4000	150ul	150ul	150ul×3
说明书	一份	一份	一份



反应体系: (以 20 μ l 反应体系为例)

组成	标准反应管	阳性对照管
Linear Vector DNA	20~100ng	20~100ng
Insert DNA	1:1 to 5:1 molar ratio over vector	/
对照插入DNA片段	/	1ul
10 \times Ligation Buffer	2ul	2ul
50% PEG 4000 (即10 \times PEG Enhancer)	粘端连接不加, 平端连接加2ul	粘端连接不加, 平端连接加2ul
T4 DNA连接酶(5U/ul)	粘端连接加1U, 平端连接加5U	粘端连接加1U, 平端连接加5U
加去离子水至终体积	20ul	20ul

反应循环的设置:

1. 粘端连接: 混匀后 22 $^{\circ}$ C反应10分钟;
2. 平端连接: 混匀后 22 $^{\circ}$ C反应2小时或16 $^{\circ}$ C过夜。

转化设置: 每50ul化转感受态混合5ul左右的连接产物;每50ul电转感受态混合1-2ul连接产物。

提高转化效率:

1. 普通连接步骤后, 于 65 $^{\circ}$ C温浴10min或70 $^{\circ}$ C温浴5min 加热失活T4 DNA Ligase。
2. 纯化DNA, 使用DNA纯化试剂盒或酚氯仿法纯化。
3. 如果在20ul反应体系中使用T4 DNA Ligase超过2U, 则最好纯化连接产物后转化。