



## T4 DNA Ligase

### T4 DNA 连接酶

版本号: V220901

货号: A501  
保存: -20°C  
运输: 低温

货号	规格
A501-01	20,000 U
A501-05	20,000 U×5

#### 【产品概述】

该酶是从携带有高表达 T4 DNA 连接酶基因的 *E. coli* 中提纯制备的, 催化双链 DNA 或 RNA 上相邻的 5'-磷酸末端和 3'-羟基末端形成磷酸二酯键。不仅能够催化平齐末端或粘性末端之间的连接, 还可以修复双链 DNA、RNA 或 DNA/RNA 杂交双链中的单链切口。T4 DNA 连接酶经过严格的质控检测, 确保该产品具有最高的活性和纯度。本产品适用于: 高效连接粘性末端、平末端、单碱基突出末端, T/A 克隆, dsDNA 切口修复, RNA 和 DNA 的连接。

#### 【产品组分】

组分货号	组分名称	A501-01	A501-05
ZA501-101	T4 DNA Ligase (400U/μl)	50 μl	50 μl×5
ZA501-102	10×T4 DNA Ligase Buffer <sup>a</sup>	100 μl	100 μl×5

<sup>a</sup>1×T4 DNA Ligase Buffer 成分: 50 mM Tris-HCl (pH7.5 @25°C), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM DTT, 1.1 mM ATP。

#### 【保存条件】

-20°C 保存, 保质期 24 个月。

#### 【活性定义】(粘性末端活性单位)

1 U 指在 20 μl 1×T4 DNA 连接酶反应缓冲液中, 16°C 反应条件下, 30 min 能使 50% 的经 *Hind*III 消化的 λDNA 片段 [5' 端浓度为 0.12 μM (300 μg/ml)] 连接所需的酶量。

#### 【使用方法】

1. 连接反应时, 推荐载体: 插入片段的摩尔比为 1:3-1:10, 可按照如下公式计算插入片段所需的量:

$$\frac{\text{载体 (ng)} \times \text{插入片段 (kb)}}{\text{载体 (kb)}} \times \text{摩尔比} \left( \frac{\text{插入片段}}{\text{载体}} \right) = \text{插入片段 (ng)}$$

如: 将 0.5 kb 的片段插入到 6 kb 的载体中, 载体: 插入片段 = 1:3 (摩尔比), 载体 80 ng, 计算插入片段的量:

$$\frac{80 \text{ ng (载体)} \times 0.5 \text{ kb (片段)}}{6 \text{ kb (载体)}} \times \frac{3}{1} = 20 \text{ ng (插入片段)}$$

2. 在冰上微量离心管中配制如下连接反应体系:

组分	10 μl 反应体系
Vector (如: 6 kb) <sup>a</sup>	80 ng
Insert (如: 0.5 kb) <sup>a</sup>	20 ng
10×T4 DNA Ligase Buffer	1 μl
T4 DNA Ligase (400U/μl) <sup>b</sup>	0.5 μl
Sterile Water	补足至 10 μl

<sup>a</sup>载体和插入片段的添加量请根据实际实验项目要求调整。

<sup>b</sup>T4 DNA Ligase 最后加入反应体系。

3. 上下吸打混匀反应液并瞬时离心。
4. 粘性末端连接, 室温孵育 10 min。  
平末端或单碱基突出末端连接, 室温孵育 2 h。



5. 65°C 孵育 10 min 终止反应。
6. 冰上冷却，将 1-5  $\mu\text{l}$  反应产物转化至 100  $\mu\text{l}$  感受态细胞。  
注：连接反应液如不立即进行转化，可于-20°C 长期保存，不可反复冻融。

**【注意事项】**

1. T4 DNA 连接酶的辅因子是 ATP，反应 Buffer 中含有 ATP，不宜反复冻融，建议分装保存。
2. 由于 T4 DNA Ligase (400U/ $\mu\text{l}$ ) 中含有甘油，比较粘稠容易挂壁，建议使用之前短暂离心将液体收集到管底，取样时枪头尽量不要深入液面太深，以免粘在枪头上造成损失。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。