

T4 DNA Quick ligase Kit

# CL06020	20U
# CL06050	50U
# CL06100	100U

贮存 -20°C, 避免反复冻融

概述: T4 DNA Quick Ligation Kit 是一种在常温条件下利用 Quick T4 DNA 连接酶在较短时间内把 DNA 片段连接到载体中的试剂盒。测试实验表明室温 (25°C) 条件下, 双粘端 DNA 片段的连接仅需 10 分钟, 双平端 DNA 片段的连接仅需 20 分钟即可完成。本试剂盒也适用于 DNA 酶切产物和载体的连接以及 DNA linker 和载体等各种常规的双链 DNA 连接反应。

本产品优化了 5×快速连接缓冲液的成分, 完成连接后不需要进行任何纯化即可直接转化感受态细胞。快速连接缓冲液中已含有 ATP、镁离子等各种连接必需成分。

应用:

- 平末端连接
- 粘末端连接

产品组成:

5×Quick Ligase Buffer
T4 DNA Quick Ligase (1U/ul)

使用说明

1、反应体系

冰上配制如下反应体系。

5×Quick Ligase Buffer	2 μL
线性化载体	约 50 ng
插入片段 (PCR 扩增产物)	X ng (约载体 mol 数的 3-8 倍)
T4 DNA Quick Ligase	1ul
ddH ₂ O	Up to 10μL

2、用移液器轻轻吹打混匀, 室温离心数秒, 是液体沉入管底;

3、推荐在 PCR 仪上设置 25°C 恒温进行连接, 粘性末端连接 10-15min, 平末端和粘/平末端连接 20-40min。

4、连接完成后, 即可转化感受态细胞

注意事项

- 载体 DNA 与插入片段 DNA 的摩尔比在 1:3~1:9 之间;
- 使用前充分混匀 5×Quick Buffer, 避免长时间室温放置;
- 平末端连接时可适当提高 DNA 浓度;
- 单酶切处理载体时, 需对载体进行去磷酸化处理, 以避免载体自连。去磷酸化可在酶切完成后向酶切体系中加入 1U 的 CIP (小牛肠碱性磷酸酶), 37 度反应 30min。去磷酸化处理的载体必须切胶回收后才能连接;
- EDTA 等金属离子螯合剂对该酶的连接反应有抑制作用, 必须保证反应体系中含该类螯合剂;
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套进行操作。