

Hieff[®] Gold T4 DNA Ligase (5 U/ μ L)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff [®] Gold T4 DNA Ligase (5 U/ μ L)	10300ES80	1000 U
Hieff [®] Gold T4 DNA Ligase (5 U/ μ L)	10300ES97	50000 U

产品描述

Hieff[®] Gold T4 DNA Ligase 在 ATP 做辅酶的情况下可催化 dsDNA 平末端或粘性末端相邻核酸的 5'磷酸末端和 3'羟基末端形成磷酸二酯键，还可催化 RNA 和双链中的 ssDNA 或 RNA 链连接，但不能催化全单链核苷酸间的连接。

本品主要适用于标记 RNA 3'-末端，环化 RNA 和 DNA 寡聚核苷酸以及克隆 cDNA 等核酸操作。

产品组分

组分编号	组分名称	产品货号/规格	
		10300ES80 (1000 U)	10300ES97 (50000 U)
10300-A	Hieff [®] Gold T4 DNA Ligase (5 U/ μ L)	200 μ L	10 mL
10300-B	10 \times Ligase Buffer	400 μ L	20 mL

运输和保存方法

冰袋运输。-20 $^{\circ}$ C 保存，有效期 2 年。

单位定义

在 20 μ L 的连接反应体系中，6 μ g 的 λ DNA-Hind III 分解物在 16 $^{\circ}$ C 下反应 30 min 时，催化 50% 以上的 DNA 片段发生连接所需要的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

质量控制

核酸外切酶残留检测：10 U 本品和 0.5 μ g λ DNA-Hind III，37 $^{\circ}$ C 下孵育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

切口酶残留检测：10 U 本品和 0.5 μ g IL23R 质粒，37 $^{\circ}$ C 下孵育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

注意事项

- 1) Buffer 在融解时，如果出现少量沉淀属正常现象，请颠倒混匀后使用。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3) 本产品仅作科研用途！

使用方法

1. 在无菌微量离心管中配制以下反应体系:

组分	使用量
载体 DNA	50-100 ng
插入片段	片段与载体的分子摩尔比应在 3:1-5:1
10 × Ligase Buffer	2 μL
Hieff® Gold T4 DNA Ligase (5 U/μL)	1 μL
ddH ₂ O	To 20 μL

【注】: 平末端载体与 DNA 片段进行连接时, 应先将载体进行去磷酸化处理, 以防发生自连接现象。为提高连接效率, 每 20 μL 反应体系中可以加 2 μL 50% PEG 4000。

2. 16°C 反应过夜。

3. 转化实验

1) 将连接产物加入到 100 μL 感受态细胞中 (连接产物不应超过感受态细胞的 1/10), 轻弹混匀, 冰上孵育 30 min。

2) 将离心管于 42°C, 热激 90 sec (不要晃动), 之后立刻置于冰水浴静置 2-3 min。

3) 向离心管中加入 900 μL LB 或 SOC 培养基, 37°C, 150 rpm, 振荡培养 45 min, 该过程使菌体复苏, 抗性基因表达。

4) 2500 g 离心 5 min, 吸去 900 μL 上清, 用剩余培养基重悬菌体, 用无菌涂布棒将剩余菌体在正确抗性的平板上涂布均匀, 待菌液被平板吸收后, 37°C 倒置培养过夜。

【注】: 如果使用超级感受态细胞 (转化效率 > 10⁸ cfu/μg), 可直接吸取 100-200 μL 37°C 孵育后的菌液涂板, 剩余菌液可在 4°C 保存, 1 周内均可重新涂板。