

Hieff® Fast T4 DNA Ligase (400 U/μL)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff® Fast T4 DNA Ligase (400 U/μL)	10299ES40	40,000 U
	10299ES42	400,000 U
	10299ES83	1,600 KU
	10299ES08	5 mL

产品描述

Hieff® Fast T4 DNA Ligase 是一款可用于 NGS 建库过程中 DNA 片段和接头连接的单酶产品，该产品已经过高通量测序验证，质量优异。本酶具有高效的连接能力，非常适合复杂结构核酸片段的连接，比如华大平台的 Ω 接头。对于无需进行体系调整的客户，推荐选购 Hieff NGS® Ultima DNA Ligation Module (Cat#12604)，其核心组分即为本品。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格			
		10299ES40 (40,000 U)	10299ES42 (400,000 U)	10299ES83 (1,600 KU)	10299ES08 (5 mL)
10299-A	Hieff® Fast T4 DNA Ligase (400 U/μL)	100 μL	1 mL	4 mL	5 mL
10299-B	10 × T4 DNA Ligase Buffer	250 μL	5 × 500 μL	10 mL	12.5 mL

单位定义

在 20 μL 的连接反应体系中，6 μg 的 λDNA-Hind III 分解物在 16°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)。

运输与保存方法

冰袋运输。-20°C 保存，有效期 2 年。

注意事项

1. T4 DNA Ligase 对物理变性敏感，混合时轻轻颠倒试管摇匀，请勿剧烈振荡；
2. 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于 -20°C 保存；
3. 本产品仅做科研用途；
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法

1. 目前主流的合并法 DNA 建库试剂盒，其末端修复和加 A 处理后一般不纯化，直接进行接头连接。本试剂盒可与主流的商业化末端修复加 A 体系兼容，进行接头连接。反应体系请参考如下配制，涡旋瞬离后置于 20°C，反应 15 min 即可。

表 1 Adapter Ligation 体系

名称	体积 (μL)
dA-tailed DNA	60
10 × T4 DNA Ligase Buffer	10
50% PEG 6000	10*
DNA Adapter	X**
Hieff® Fast T4 DNA Ligase (400 U/μL)	1-5***
ddH ₂ O	To 100

【注】：*试剂盒内未提供 50% PEG 6000，需自行准备。

**接头用量参考表 2。

***Hieff® Fast T4 DNA Ligase 用量可根据需要添加 1-5 μL。

2. Adapter 的质量和浓度直接影响连接效率及文库产量。Adapter 用量过高可能会产生较多 Adapter Dimer；用量较低可能会影响连接效率及文库产量。表 2 列举了使用本试剂盒，不同 Input DNA 量推荐的 Adapter 使用量。

表 2 500 pg-1 μg Input DNA 推荐的 Adapter 使用浓度

Input DNA	Adapter : Input DNA 摩尔比	Input DNA	Adapter : Input DNA 摩尔比
1 μg	10:1	50 ng	100:1
500 ng	20:1	25 ng	200:1
250 ng	40:1	1 ng	200:1
100 ng	100:1	500 pg	400:1

【注】：Input DNA 摩尔数 (pmol) ≈ Input DNA 质量(ng) / [0.66 × Input DNA 平均长度 (bp)]。

【接头添加计算举例】：当 Input DNA 为 100 ng，Input DNA 长度为 300 bp 时，接头应该添加多少？

第一步，计算 Input DNA 摩尔数。公式：Input DNA 摩尔数 (pmol) ≈ Input DNA 质量(ng) / [0.66 × Input DNA 平均长度 (bp)]；

$$\text{Input DNA 摩尔数 (pmol)} = 100 \div (0.66 \times 300) = 0.5 \text{ pmol};$$

第二步，计算接头添加摩尔数。根据表 2 查询接头添加比例；

根据表 2，查得 Input DNA 100ng 时接头添加比例 100:1，则接头添加摩尔数=100×0.5 pmol=50 pmol；

第三步，计算接头添加体积。接头浓度=15 μmol/L（如使用其他接头，浓度需要依据其他接头浓度参数）；

$$\text{接头添加体积} = \text{接头添加摩尔数 (50 pmol)} \div \text{接头浓度 (15 μmol/L)} = 3.34 \text{ μL (注: 15 μmol/L=15 pmol/μL)}$$

综上，接头可添加 3.4 μL。（注：接头最大加入体积不超过 5 μL）