



2×T4 DNA Ligase Master Mix

产品信息:

组成	CL305
2×T4 DNA Ligase Master Mix	100μl

产品概述:

DNA 连接是一种常用的分子生物学实验方法。T4 DNA 连接酶是使用最多的连接酶。2×T4 DNA Ligase Master Mix 是一种高效的 T4 DNA 连接酶预混型试剂，包含了 T4 DNA 连接酶、连接缓冲液及连接促进剂等成分，只需要往 DNA 混合液中加入等体积的 2×T4 DNA Ligase Master Mix 即可完成连接反应。

该产品在-20℃不会冻结，无需长时间的化冻过程，使用非常简便。DNA 片段在连接酶的作用下短时间便可发生高效连接。本产品应用于粘性末端、平滑末端双链 DNA 连接及 TA 克隆等。

保存条件: -20℃保存一年。

使用方法:

1. 在无菌PCR管中加入以下成分

成分	体积
2×T4 DNA Ligase Master Mix	5μl
载体	Xμl
片段	Yμl
灭菌水	补至 10μl

用手指轻弹管底混匀，离心数秒使反应混合物沉到管底。

2. 反应条件

25℃反应5min。片段较长(>2kb)时，连接时间可以适当延长到30min。连接反应结束后不能立即转化时，可将连接产物置于4℃冰箱保存。

3. 连接载体和片段的使用量

连接载体和片段的量一般按照摩尔比 1:3-1:10 进行，载体使用量比片段使用量小。载体和片段的使用量一般为 50-100ng 之间。例如，3kb 的载体和 0.5kb 片段按摩尔比 1:3 的连接反应。假如使用 50ng 的 3kb 载体，那么 0.5kb 的片段需要量计算方法为： $[(50\text{ng} \times 0.5\text{kb}) \div 3\text{kb}] \times (3 \div 1) = 25\text{ng}$ 。如果载体和片段的浓度偏小，连接体积可以按比例适当增加。

4. 转化

连接完成后，将 5-10μl 连接产物加到合适的感受态细胞中，按照感受态细胞说明书中所叙述的转化步骤进行转化。

注意事项:

1. 本试剂在-30℃以下温度长时间保存时可能会产生冻结，但经试验证实，溶解后不影响连接活性，反复冻融多次不影响其活性。
2. T4 DNA ligase 需要 Mg^{2+} 为激活剂，因此整合 Mg^{2+} 的 EDTA 的存在会阻碍连接反应。溶解于高浓度 EDTA 缓冲液的 DNA 需要用灭菌水或 TE 缓冲液进行置换。