

## 快速 DNA 连接酶

### Fast DNA ligase

#### ■ 货号

M10005

#### ■ 产品组成

Fast DNA ligase (5U/μl)	200 μl
10x DNA ligase buffer	500 μl

#### ■ 产品特点

Fast DNA ligase 是经过基因工程改造后的 T4 DNA ligase 突变体，它催化双螺旋 DNA 或 RNA 中并排的 5-磷酸基和 3-羟基端之间磷酸二酯键的形成。该酶可以修复双螺旋 DNA、RNA 或 DNA/RNA 杂合体中的单链缺口。该酶也可催化 RNA 与双链 DNA 或 RNA 的连接，但对单链核酸无活性。与野生型 T4 DNA ligase 相比较，Fast DNA ligase 最大特点是可在极短时间内完成粘性末端（20 分钟）或平末端（至多 1 小时）连接。

#### ■ 用途

1. 克隆限制性内切酶生成的 DNA 片段
2. 克隆 PCR 产物
3. 将双链寡核苷酸接头与 DNA 相连。
4. 定点突变
5. 线性 DNA 的自身环化
6. 双螺旋 DNA、RNA 或 DNA/RNA 杂交体中的缺口修复

#### ■ 活性单位定义

Fast DNA ligase 的 0.01Weiss 单位定义为：在 16°C 20 分钟内催化多于 95% 的 1μg λ/Hind III 片段的连接所需要的酶量。

#### ■ 质量控制

经多次柱纯化，SDS-PAGE 胶检测仅可见清晰单一的目的条带；PCR 方法检测无大肠杆菌 DNA 残留，无核酸内、外切酶污染。

#### ■ 使用方法

1. 反应体系的建立：

TaqMine

试剂	10μl 反应体系
DNA1(比如克隆载体)	20-100ng
DNA2(插入 DNA 片段)	50-200ng
10x ligation buffer	1μl
Fast DNA ligase	1μl
ddH <sub>2</sub> O	Up to 10μl

2. 22°C温浴 1 hr (用于平末端连接) 或 20 min (用于粘性末端连接)。

**注意:** 在进行平末端连接时, 插入 DNA 片段与克隆载体的摩尔数之比应该在 6-10 以上。DNA 质量与摩尔数之间的换算公式为:  $\text{pmols} = (\text{质量 ng} \times 1000) / (\text{片段长度 bp} \times 650\text{daltons})$ ; 对于粘性末端连接, 插入 DNA 片段与克隆载体的摩尔数之比为 1: 1 便能得到很好的克隆效果。

#### ■ 储存条件

储存于-20°C, 避免经常冻融。

#### ■ 来源

重组 *E.coli* 菌株

TaqMine