

M5 T4 DNA Ligase Plus 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 T4 DNA Ligase Plus	500U(100μl)	MF016-plus-01
M5 T4 DNA Ligase Plus	5x500U	MF016-plus-05

【储存条件】

长期保存，请置于-20°C，有效期 24 个月。

【产品简介】

M5 T4 DNA Ligase Plus 是将源于 T4 噬菌体的 T4 DNA 连接酶基因在大肠杆菌中高效表达，经过多次柱层析纯化而获得的高效率、高纯度、高活性的 DNA 连接酶。该酶具有催化双链 DNA 或 RNA 上相邻的 5'-磷酸末端和 3'-羟基末端形成磷酸二酯键的特性。不仅能够催化平齐末端或粘性末端之间的连接，还可以修复双链 DNA、RNA 或 DNA/RNA 杂交双链中的单链切口，但是对于单链核苷酸没有活性。M5 T4 DNA Ligase Plus 经过严格的质检检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

【产品组分】

M5 T4 DNA Ligase Plus (5U/μl)	100 μl
10× M5 T4 DNA Ligase Plus Buffer	750 μl
50% PEG Solution	750μl

【反应条件】

1X M5 T4 DNA Ligase Plus 反应缓冲液：50mM Tris-HCl (pH7.5 @25°C), 10mM MgCl₂, 10mM DTT, 1mM ATP。推荐 DNA 5'末端浓度为 0.1-1.0μM, 22°C 温育。热失活：65°C 10 分钟。

【注意事项】

ATP 是反应必须的辅因子。而大肠杆菌 DNA 连接酶则需要 NAD 作为辅因子。如 T4 DNA 连接酶稀释后于-20°C 贮存，应选用含 50% 甘油的贮存缓冲液；如稀释后立即使用，则用 1× T4 DNA 连接酶缓冲液稀释即可。

【浓度】

5U/μl

【适用范围】

- 高效连接粘性末端和平末端：TA 克隆 和 Blunt 克隆；
- 修复 dsDNA 切口，同时可以用于连接 RNA 和 DNA；
- 构建高丰度克隆文库，尤其适用于二代测序文库的连接反应

【基本反应体系】

<与载体的连接反应>

载体 DNA	0.05-0.5μg
DNA 片段	3 倍于载体的摩尔数
10× M5 Ligase Plus Buffer	2μl
M5 T4 DNA Ligase Plus	0.2-0.5μl (根据粘性/平末端调整)
总体积	20μl

22°C, 10 分钟 (粘性末端); 22°C, 一个小时 (平末端)

<与 linker 的连接反应>

DNA	0.1-1μg
linker	10 倍于 DNA 的摩尔数
10× M5 Ligase Plus Buffer	2μl
M5 T4 DNA Ligase Plus	0.5-1μl
总体积	20μl

22°C, 10 分钟 (粘性末端); 22°C, 一个小时 (平末端)

注意：连接平末端时，可以加入 50% PEG Solution 提高连接效率 (加入比例为：20μl 体系加入 2μl 50% PEG Solution)

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。