

M5 Quick T4 DNA Ligation Kit T4 DNA 连接酶

快速连接试剂盒使用说明书

产品	单位	货号
M5 Quick T4 DNA Ligation Kit	20T	MF277-01
M5 Quick T4 DNA Ligation Kit	100T	MF277-05

【储存条件】

-20℃保存。

【产品简介】

快速连接试剂盒在室温（25℃）反应 5 分钟可完成 DNA 粘性末端或平齐末端的连接反应。试剂盒含有 Quick T4 DNA Ligase 和为快速高效 DNA 连接优化的 2×Quick Ligation Buffer。快速连接的连接效率相当于用 T4 DNA Ligase 进行常规连接 1 小时。快速连接产物可直接用于常规的细菌转化实验。

【产品组份】

	MF277-01	MF277-05
Quick T4 DNA Ligase (15 U/μl)	20 μl	100 μl
2×Quick Ligation Buffer	200 μl	5×200 μl

【实验前准备及重要注意事项】

1. 本试剂盒能使大多数连接反应在 25℃ 条件下 5 分钟甚至更短时间内达到反应终点，增加反应时间反应效率不会增强。如用快速连接反应 1 小时后，转化效率会明显降低；如 25℃ 快速连接反应过夜，则转化效率会下降到 75%。
2. 2×Quick Ligation Buffer 含有 ATP，使用前置于冰上使其融化后充分混匀，建议初次使用分装成小管冻存，避免其反复冻融影响 DNA 连接效率。
3. 由于 T4 DNA Ligase 中含有甘油，比较粘稠容易挂壁，建议使用之前短暂离心将液体收集到管底，取样时枪头尽量不要深入液面太深，以免粘在枪头上造成损失。
4. 如快速连接产物用于电转，快速连接反应体系中的 PEG 会影响电转效率，建议使用离心柱将连接产物进行 DNA 纯化(如 MF030 快速 DNA 产物纯化试剂盒)后再进行电转。

【操作步骤】

1. 按以下体系配制反应液：

成分	20 μl 体系
Vector DNA	X μl (10-100 ng)
Insert DNA*	Y μl
2×Quick Ligation Buffer	10 μl
Quick T4 DNA Ligase (15 U/μl)	1 μl
RNase-Free Water	补足至 20 μl

*Insert DNA 的使用量：Vector DNA 和 Insert DNA 的摩尔比一般为 1:3-1:8，可根据实验情况选择适当的 Vector DNA 和 Insert DNA 的摩尔数比。DNA 摩尔数计算方式：DNA 摩尔数 (nmol) = DNA 质量 (ng) / (660 daltons × 插入 DNA 碱基数 bp)。

2. 轻轻混合，短暂离心。25°C反应 5 分钟。

注意：反应时间不要超过 15 分钟，否则会降低连接效率。

3. 勿进行加热失活反应。瞬间离心，将管壁上的溶液收集到管底。

注意：因缓冲液中含有 PEG，加热失活会显著降低转化效率。

4. 反应结束后，将 DNA 连接产物存放于 0-4°C，而后进行转化实验；也可将 DNA 连接产物置于-20°C保存。

注意：用化学法转化时，连接产物的加入量不要超过感受态细胞体积的 10%。

5. 将连接产物热击转化 50 μ l 感受态细胞或取 1-2 μ l 连接产物电击转化 50 μ l 感受态细胞。

注意：1) 用化学法转化时，连接产物的加入量不要超过感受态细胞体积的 10%。

2) 如快速连接产物用于电转，因快速连接反应体系中的 PEG 会影响电转效率，建议使用离心柱将连接产物进行 DNA 纯化（如 MF030 快速 DNA 产物纯化试剂盒）后再进行电转。



【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。