

M5 T4 DNA Ligase 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 T4 DNA ligase	10000u	MF016-T
M5 T4 DNA ligase	20000u	MF016-01
M5 T4 DNA ligase	5×20000u	MF016-05

【储存条件】

长期保存，请置于-20℃，有效期 24 个月。经常使用，也请置于-20℃保存，聚合美建议客户将 M5 T4 DNA Ligase Buffer 分装保存，以保证缓冲液中的活性物质稳定。

【产品简介】

M5 T4 DNA ligase 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。M5 T4 DNA 连接酶经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

【单位定义】

(以粘性末端活性单位) 1 单位是指在 20μl 1× M5 T4 DNA ligase 反应缓冲液中，16℃ 反应条件下，30 分钟能使 50% 经 HindIII 消化的 λ DNA 片段[5'端浓度为 0.12 μM (300 μg/ml)]连接所需要的酶量。

【产品组分】

	MF016-T	MF016-01
M5 T4 DNA Ligase	25 μl	50 μl
10× M5 T4 DNA Ligase Buffer	62.5ul	125ul

【反应条件】

1X M5 T4 DNA Ligase 反应缓冲液：50mM Tris-HCl (pH7.5 @25℃)，10mM MgCl₂，10mM DTT，1mM ATP。推荐 DNA 5'末端浓度为 0.1-1.0μM，16℃ 温育。热失活：65℃ 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℃ 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】 400,000 units/ml

【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

【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 Buffer	2 μl
M5 T4 DNA Ligase	0.5-1μl (根据粘性/平末端调整)
总体积	20μl

16℃，30 分钟-1 小时，或者 4℃，过夜

<与 linker 的连接反应>

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

16℃，1-4 小时，或者 4℃，过夜

【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。

M5 T4 DNA Ligase

Description

M5 T4 DNA ligase is purified from Escherichia coli carrying plasmids that enable high expression of T4 DNA ligase. It catalyzes the formation of a phosphodiester bond between juxtaposed 5' phosphate and 3' hydroxyl termini in duplex DNA or RNA. This enzyme will join blunt end and cohesive end termini as well as repair single stranded nicks in duplex DNA and some DNA/RNA hybrids.

Storage and shipping

T4 DNA Ligase is recommended to be kept at -20°C until within 5-10 minutes of use and returned IMMEDIATELY to -20°C after use.

Applications

Cloning of restriction fragments; Joining linkers and adapters to blunt-ended DNA.

Unit Definition

One unit is defined as the amount of enzyme required to give 50% ligation of HindIII fragments of λ DNA (5' DNA termini concentration of 0.12 μ M, 300- μ g/ml) in a total reaction volume of 20 μ l in 30 minutes at 16°C in 1 $\times$ T4 DNA Ligase Reaction Buffer.

Components

	MF016-T	MF016-01
M5 T4 DNA Ligase	25ul	50 μ l
10 $\times$ M5 T4 DNA Ligase Buffer	0.5ml	2x0.5ml

Concentration

400,000 cohesive end units/ml

Reaction Conditions

1 $\times$ T4 DNA Ligase Reaction Buffer (50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM ATP, 10 mM DTT) Incubate at **16°C**.

Protocol

Recommended Conditions for General Cloning:

Insert: Vector Molar Ratio	3:1
Vector DNA	3-30 fmol
Insert DNA	9-90 fmol
10 $\times$ M5 Ligase Buffer	2 μ l
M5 T4 DNA Ligase	0.5-1 μ l
Autoclaved distilled water to 20 μ l	
16°C , 30-60 min or 4°C overnight	

Recommended Conditions for linker/adaptor ligation:

Linker: DNA Molar Ratio	10:1
DNA	3-30 fmol
Linker	30-300 fmol
10 $\times$ M5 Ligase Buffer	2 μ l
M5 T4 DNA Ligase	0.5-1 μ l
Autoclaved distilled water to 20 μ l	
16°C , 1-4 hour or 4°C overnight	