

## T4 DNA 连接酶说明书

中文名称：T4 DNA 连接酶

英文名称：T4 DNA Ligase

CAS 号：9015-85-4

分子量：55.3kDa，单体

级别：BR

来源：含有 T4 噬菌体克隆基因 30 的大肠杆菌

**活性定义：**是指在 ATP-PPi 交换反应中，37℃、30 分钟内将 1nmol [32PPI]转换为 Norit 可吸收形式所需的酶量（weiss 单位，1 个 weiss 单位相当于约 200 个粘性末端连接单位。1 个粘性末端连接单位：20ul 反应体系（50mM Tris-HCL(PH7.5), 10mM DTT, 10mM MgCL2, 1mM ATP, 25ug/ml BSA, 12uM(300ug/ml)的 5-DNA 末端）中，在 16℃、30 分钟内连接 50%连接 HindIII 酶切的 Lambda DNA 产物所需的酶量）

**抑制剂：**当反应体系中 NaCl 或 KCl 的浓度超过 200 mM 时，可强烈抑制 T4 DNA Ligase 活性

**失活：**65℃加热 10 分钟或 70℃加热 5 分钟

**注意：**T4 DNA Ligase 与 DNA 结合会改变条带的琼脂糖凝胶电泳迁移率，为避免此现象，电泳前需处理样本或分子量标准。样本处理如下：样本与 Fermentas 公司 6×DNA Loading Dye&SDS 溶液（#R1151）混合，75℃加热 5 分钟或 65℃加热 10 分钟后冰浴保存；转化时，连接产物的体积不得超过感受态细胞体积中的 10%；

电转化之前，先用氯仿抽提方法除去连接混合物中的 T4 DNA Ligase，然后经乙醇沉淀纯化抽提产物

**质量控制：**测试表明无内切脱氧核糖核酸酶、核糖核酸酶、磷酸酶污染。功能检测：粘性末端或平末端 DNA 的连接能力

**性状(以下信息仅供参考)：**液体。该酶催化双链 DNA 或 RNA 中毗邻的 5'磷酸基团和 3'-羟基末端之间形成磷酸二酯键，还可以修复双链 DNA、RNA 或 DNA/RNA 复合体中的单链切口，连接 DNA 的粘性和平末端，但该酶对单链核酸无酶活性。该酶需要辅因子 ATP

**用途：**本品仅供科研，不得用于其它用途。(以下用途仅供参考)粘性末端或平末端双链 DNA 的连接；双链寡核苷酸接头与双链 DNA 连接；双链 DNA、RNA 或 DNA-RNA 复合体中缺口的修复；连接酶介导的 RNA 检测；位点特异性突变；扩增片段长度多态性

**保存：** -20° C