**T4 DNA Ligase MP1124**

****

**Technical literature is available at:** [**www.mesgenbio.com**](http://www.mesgenbio.com)**. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com**

**产品用途**

**1.** DNA片段和载体DNA的连接。 **2.** DNA片段和Linker或Adaptor DNA的连接。

**产品简介**

T4 DNA Ligase可催化dsDNA平末端或粘性末端相邻核酸的5’磷酸末端和3’羟基末端形成磷酸二酯键，还可催化RNA和双链中的ssDNA或RNA链连接，但不催化全单链核苷酸连接。适用于标记 RNA 3‘-末端，环化RNA和DNA寡聚核苷酸以及克隆cDNA等操作。

**产品组成**

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **体积** |
| 10 × Ligase Buffer | 1ml |
| T4 DNA Ligase (400 U/μl) | 100μl |

**活力单位定义**

在20μl的连接反应体系中，6μg的λDNA-HindⅢ的分解物在16℃下反应30分钟时，有50%以上的DNA片段被连接所需要的酶量定义为1个活性单位 (U)。

**操作办法**

1. 在微量离心管中制配制连接反应体系：

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **体积** |
| 10 × Ligase Buffer | 1μl |
| 插入片段 | 0.3 pmol |
| 载体DNA | 0.03 pmol |
| T4 DNA Ligase (400 U/μl) | 1μl |
| 超纯水 | 补足至10μl |

注：插入片段与载体的摩尔比应在3:1～10:1之间；平末端载体与DNA片段进行连接，应先将载体去磷酸化处理，以防自身环化。

2. 16℃过夜反应。

3. 转化

1) 将连接产物加入到100μl感受态细胞中（连接产物的体积不应超过感受态细胞体积的1/6），轻轻弹匀，冰上孵育30分钟。

2) 将离心管置于42℃水浴，不要晃动，准确热激90秒后，立刻置于冰水浴中，静置2-3分钟。

3) 向离心管中加入900μl LB或SOC培养基，150 rpm, 37℃振荡培养45分钟，使菌体复苏，抗性基因表达。

4) 2,500g离心5分钟，去掉900μl上清。用剩余培养基将菌体重悬，用无菌涂布棒在含有正确抗性的平板上轻轻涂匀。室温正置10分钟。待菌液被平板吸收后，37℃倒置培养过夜。

**保存条件**

**-20° C**

**仅供研究，不得用于临床诊断**