

Fast DNA Ligation Kit

DNA 快速连接试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1578A	DNA快速连接试剂盒	100 T

产品简介:

Fast DNA Ligation Kit 包含了高浓度 T4 连接酶 (2,000U/μL) 和连接反应 Buffer, 可在常温 (25°C) 下反应 5-15min 内高效地将粘性末端和平末端 DNA 插入片段与质粒载体连接。使用本试剂盒的连接产物, 可以免除连接 DNA 转化前的进一步纯化。本产品适用于: 具有复杂结构的 DNA 片段与载体快速高效连接; NGS 文库构建; Adaptor 连接等。

产品组分:

组分名称	规格
T4 DNA Ligase (2000U/μL)	50 μL
2×Fast Ligation Buffer	500 μL
10×T4 DNA Ligase Buffer	100 μL

注: 1×Fast Ligation Buffer 成分: 66 mM Tris-HCl (pH7.6 @ 25°C), 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 1.1 mM ATP, 7.5% 聚乙二醇 (PEG4000)。

1×T4 DNA Ligase Buffer 成分: 50 mM Tris-HCl (pH7.5 @ 25°C), 10 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 1.1 mM ATP。

使用方法:

1. 以质粒和 DNA 片段连接反应为例

注: 通常 2×Fast Ligation Buffer 连接效率更高, 如有特殊需求可用 10×T4 DNA Ligase Buffer。以下实验选用 2×Fast Ligation Buffer。

(1) 在冰上微量离心管中配制如下连接反应体系:

组分	用量
Vector (如: 6 kb) *	80 ng
Insert (如: 0.5 kb) *	20 ng
2×Fast Ligation Buffer**	5 μL
T4 DNA Ligase (2000U/μL)***	0.5 μL
Nuclease-Free Water	To 10 μL

*: 根据插入 DNA 片段和载体分子量, 在反应体系中按 1:3-1:10 的摩尔比加入载体和插入片段。

** : 2×Fast Ligation Buffer 融解混匀后使用。

***: T4 DNA Ligase 最后加入反应体系。

2. 上下吸打混匀反应液并瞬时离心。

3. 粘性末端连接, 室温孵育 5 min。平末端或单碱基突出末端连接, 室温孵育 15 min。

4. 将 1-5 μL 反应产物转化至 100 μL 感受态细胞。于 -20°C 长期保存。

注: 不要通过热失活终止连接反应, 否则会显著降低转化效率。

注意事项:

- 1、使用 DNA 快速连接试剂盒, 大多数连接反应能在 25°C 条件下 5 min 甚至更短时间内达到反应终点, 增加反应时间不会提高反应效率。实际上, 连接 1 h 后转化效率会降低, 如果 25°C 过夜反应, 转化效率会下降 75%。
- 2、电转化可以数量级地提高转化效率, 但使用 2×Fast Ligation Buffer 的连接产物需纯化或透析后才能进行电转化。
- 3、T4 DNA 连接酶的辅因子是 ATP, 反应 Buffer 中含有 ATP, 不宜反复冻融, 建议分装保存。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





- 4、由于 T4 DNA Ligase (2,000U/μL) 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。
- 5、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存, 2 年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

