产品组分

组分名称	组分目录号	浓度	规格-1 200 U	规格-2 1,000 U
E.coli DNA Ligase	RM20505	10,000 U/mL	20 μL	100 μL
10X *E.coli* DNA Ligase Reaction Buffer	RM20128	10X	50 μL	250 μL

产品说明

E.coli DNA Ligase 催化相邻粘性末端 DNA 链的 5´-磷酸基与 3'-羟基形成磷酸二酯键，且对平末端的底物 DNA 无明显连接活性。*E.coli* DNA Ligase 以 NAD^+作为辅助因子，可以被热失活，且在 4-37°C 的温度范围内都有连接活性。

保存温度

E.coli DNA Ligase 长期保存：-20°C

10X *E.coli* DNA Ligase Reaction Buffer 短期保存：-20°C，长期保存：-80°C

产品来源

E.coli DNA Ligase 基因在大肠杆菌中重组表达并纯化获得。

活性定义

1 活性单位(U)：指λDNA (经 HindIII 酶切，具有 5'粘性末端，DNA 浓度 0.12 μM, 300 μg/mL)在 20 μL 体系的 1X *E.coli* DNA Ligase Reaction Buffer 中，16°C 反应 30 min，连接 50%DNA 片段所需的酶量。

反应条件

1X *E.coli* DNA Ligase Reaction Buffer, 16°C 反应

1X *E. coli* DNA Ligase Reaction Buffer组成

30 mM Tris-HCl, 4 mM $MgCl_2$, 26 μM NAD^+, 1 mM DTT, 50 μg/mL BSA, pH 8 @ 25°C

酶储存液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0. 1 mM EDTA, 200 μg/mL BSA, 50 % Glycerol, pH 7.4 @25°C

热失活

65°C 加热 20 min

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126
For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

操作说明

1、按下表所示加入各反应组分。

组分	使用量
ddH_2O	Up to 20 μL
10X *E.coli* DNA Ligase Reaction Buffer	2 μL
DNA	Up to 5 μg
E. coli DNA Ligase	1 μL (10 U)

2、将上述反应体系吹打混匀并瞬时离心后置于 16°C 反应 30 min。

3、65°C 加热 20 min 使连接酶热失活。

注意事项

1、相比其他许多连接酶以 ATP 为辅助因子，*E.coli* DNA Ligase 是以 NAD^+(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)作为辅助因子。

2、使用 *E.coli* DNA Ligase 连接平末端 DNA 片段效率极低，如若是对平末端 DNA 片段的连接，可以使用 T4 DNA 连接酶。

3、*E.coli* DNA Ligase 不能完成 RNA 与 DNA 分子间的连接。

4、*E.coli* DNA Ligase 仅能连接粘性末端 DNA 片段。

5、10X *E.coli* DNA Ligase Reaction Buffer 中含有辅助因子 NAD^+，应长期置于-80°C 保存，以延长 NAD^+的半衰期。

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.