

# 大肠杆菌DNA连接酶

## *E. coli* DNA Ligase

Code No. AG11813

<b>包装量:</b>	1000 U ( 60 U/ $\mu$ l )
<b>保存温度:</b>	-20°C

### ➤ 产品概述

*E. coli* DNA Ligase 是一种催化双链 DNA 粘性末端连接或双链 DNA 中的切割修复的 DNA 连接酶。该酶可以催化双链 DNA 中 5' 磷酸和 3' 羟基之间形成磷酸二酯键，连接反应的发生需要以 NAD (烟酰胺腺嘌呤二核苷酸) 作为辅酶。

*E. coli* DNA Ligase 在一定温度范围内(4~37°C)均具有活性，经 65°C 孵育 20 分钟失去活性。*E. coli* DNA Ligase 对底物的选择比 T4 DNA Ligase 更具特异性，如果只需要粘性末端的连接，抑制平末端或 RNA 分子的连接，建议使用 *E. coli* DNA Ligase。

### ➤ 活性定义

在 20  $\mu$ l 的连接反应体系中，6  $\mu$ g 的  $\lambda$  DNA *Hind* III 的分解物在 16°C 下反应 30 min 时，有 90% 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)。

### ➤ 保存及运输

保存温度：-20°C 保存

运输温度：干冰运输或 -20°C 冰袋运输

### ➤ 产品组成

<i>E. coli</i> DNA Ligase ( 60 U/ $\mu$ l )	1000 U
10X <i>E. coli</i> DNA Ligase Reaction Buffer	100 $\mu$ l
20X BSA	50 $\mu$ l

### ➤ 注意事项

1. *E. coli* DNA Ligase ( 60 U/ $\mu$ l ) 对平末端片段的连接效率极低，建议使用 T4 DNA Ligase 连接平末端片段。
2. *E. coli* DNA Ligase ( 60 U/ $\mu$ l ) 只能连接具有粘性末端的双链 DNA 片段，不能催化 DNA 与 RNA 以及 RNA 之间的连接反应。
3. BSA 在 -20°C 下易产生沉淀，应尽量避免多次反复冻融。

## 应用

1. NGS 单链 DNA 建库中进行接头的连接反应。
2. 双链 DNA 的切刻修复。
3. Okayama–Berg 法克隆 cDNA 中，用于第二链 cDNA 片段的连接。

## 实验操作

1. 参考下表内容配制好反应液

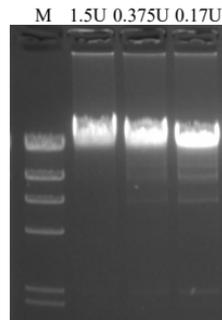
组分名称	加入量
10X <i>E.coli</i> DNA Ligase Reaction Buffer	2.0 $\mu$ l
20X BSA	1.0 $\mu$ l
dsDNA	1.0 $\mu$ g
<i>E.coli</i> DNA Ligase (60 U/ $\mu$ l)	1.0 $\mu$ l
RNase free water	Up to 20 $\mu$ l

2. 在 16°C 下孵育 1 h 或过夜，65°C 下 20 min 灭活。

## 结果示例

对本产品进行连接性能检测：

模板为  $\lambda$  DNA *Hind*III，反应体系为 10  $\mu$ l，模板量为 3  $\mu$ g；经 16 °C 30 min 反应后取适量反应产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。



凝胶电泳图：

M 为  $\lambda$  DNA *Hind*III，实际的酶添加量已在图中进行标注。

结果显示：

随着酶量的提升，连接效果逐渐增强，在酶添加量为 1.5U 时即可将模板连接完全。

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.