

GNM 快速T4 DNA连接试剂盒

# KL06020	20U
# KL06050	50U
# KL06100	100U

贮存 -20℃，避免反复冻融

概述： GNM 快速T4 DNA连接试剂盒是一种在常温条件下利用 Quick T4 DNA 连接酶在较短时间内把 DNA 片段连接到载体中的试剂盒。测试实验表明室温（25℃）条件下，双粘端 DNA 片段的连接仅需 10 分钟，双平端 DNA 片段的连接仅需 20 分钟即可完成。本试剂盒也适用于 DNA 酶切产物和载体的连接以及 DNA linker 和载体等各种常规的双链 DNA 连接反应。

本产品优化了 5×快速连接缓冲液的成分，完成连接后不需要进行任何纯化即可直接转化感受态细胞。快速连接缓冲液中已含有 ATP、镁离子等各种连接必需成分。

应用：

- 平末端连接
- 粘末端连接

产品组成：

5×Quick Ligase Buffer

T4 DNA Quick Ligase (1U/ul)

使用说明

1、反应体系

冰上配制如下反应体系。

5×Quick Ligase Buffer	2 μL
线性化载体	约 50 ng
插入片段（PCR 扩增产物）	X ng（约载体 mol 数的 3-8 倍）
T4 DNA Quick Ligase	1ul
ddH ₂ O	Up to 10μL

2、用移液器轻轻吹打混匀，室温离心数秒，是液体沉入管底；

3、推荐在 PCR 仪上设置 25℃恒温进行连接，粘性末端连接 10-15min，平末端和粘/平末端连接 20-40min。

4、连接完成后，即可转化感受态细胞

注意事项

- 载体 DNA 与插入片段 DNA 的摩尔比在 1:3~1:9 之间；
- 使用前充分混匀 5×Quick Buffer，避免长时间室温放置；
- 平末端连接时可适当提高 DNA 浓度；
- 单酶切处理载体时，需对载体进行去磷酸化处理，以避免载体自连。去磷酸化可在酶切完成后向酶切体系中加入 1U 的 CIP（小牛肠碱性磷酸酶），37 度反应 30min。去磷酸化处理的载体必须切胶回收后才能连接；
- EDTA 等金属离子螯合剂对该酶的连接反应有抑制作用，必须保证反应体系中含该类螯合剂；
- 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。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套进行操作。