

Taq DNA Ligase

目录号: RK20502

规格: 2,000 U / 10,000 U

浓度: 40,000 U/mL

产品组成:

Taq DNA Ligase (40,000 U/mL)	RM20506
10X Taq DNA Ligase Reaction Buffer	RM20131

TEL: 400-999-6126

WEB: www.abclonal.com.cn

热失活

否

操作说明

1. 按下表所示加入各反应组分:

推荐的反应体系 (以 20 μ L 体系为例)

组分	加入量
ddH ₂ O	Up to 50 μ L
10X Taq DNA Ligase Reaction Buffer	5 μ L
DNA	Up to 1 μ g
Taq DNA Ligase	2 μ L (80 U)

2. 将上述反应体系吹打混匀并瞬时离心后置于 45°C 反应 15 min。

注意事项

- 10X Taq DNA Ligase Reaction Buffer (RM20131) 从低温到室温解冻后, 溶液中可能出现白色沉淀, 可以用移液器吹打 20-30 次或者涡旋震荡溶解沉淀。
- 反应条件: Taq DNA Ligase 与 DNA 连接底物在 1X Taq DNA Ligase Buffer 中于 45°C 反应 15 min, 或可置于 PCR 仪中按合适的反应程序进行连接, 参考 [Barany (1991) Genetic Disease Detection and DNA Amplification Using Cloned Thermostable Ligase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 189-193.]。连接反应可以被含有 50% 甘油、50 mM EDTA、溴酚蓝的混合液终止。
- Taq DNA Ligase 连接反应需要 NAD⁺ 作为辅助因子, 10X Taq DNA Ligase Reaction Buffer 中含有辅助因子 NAD⁺, 所以 10X Taq DNA Ligase Reaction Buffer 应长期置于 -80°C 保存, 以延长 NAD⁺ 的半衰期。

产品说明

Taq DNA Ligase 是一种耐高温连接酶, 它能催化与同一互补靶 DNA 链杂交的两条相邻寡核苷酸链的 5'-磷酸和 3'-羟基之间形成磷酸二酯键。该催化反应只有当两条寡核苷酸链与互补靶 DNA 完全配对, 且两条寡核苷酸链之间没有间隙的条件下才会发生。因此, 可以用它来检测单碱基替换。Taq DNA 连接酶以 NAD⁺ 为辅助因子, 在 37-75°C 范围内均有活性。

产品应用

- 同源重组
- 通过 PCR 扩增掺入磷酸化寡核苷酸进行诱变
- 连接酶检测反应和连接酶链式反应对等位基因进行分型

产品来源

从 *Thermus thermophilus* HB 来源的 Taq DNA Ligase 基因在大肠杆菌中重组表达并经过多步纯化精制而成。

活性定义 (粘性末端定义的活性单位)

1 个活性单位(U)是指在 50 μ L 反应体系中, 45°C 反应 15 min 能使 50% 的 1 μ g 经 BstEII 消化的 λ DNA 片段 (12 bp 粘性末端) 发生连接所需的酶量。

1X Taq DNA Ligase Reaction Buffer 组成

20 mM Tris-HCl, 25 mM KAc, 10 mM MgAc₂, 1 mM NAD⁺, 10 mM DTT, 0.1% Triton X-100, pH 7.6 @25°C

保存温度

Taq DNA Ligase 长期保存: -20°C

10X Reaction Buffer 短期保存: -20°C, 长期保存: -80°C

酶存储液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C

质量控制

- ◆ SDS-PAGE 检测蛋白纯度大于 95%。
- ◆ 无核酸内切酶、单链 DNA 酶和 RNA 酶活性。
- ◆ PCR 检测无宿主基因组残留。