

Quick DNA Ligation Kit 快速DNA连接试剂盒

项目号: Q665687

保存条件: -20℃

产品内容

Component	Q665687-100T
Quick T4 DNA Ligase (15U/μl)	100 μl
2×Quick Ligation Reaction Buffer	5×200 μl

产品简介

快速连接试剂盒在室温(25℃)反应5分钟可完成DNA粘性末端或平齐末端的连接反应。试剂盒含有Quick T4 DNA Ligase和为快速高效DNA连接优化的2×Quick Ligation Reaction Buffer。快速连接的连接效率相当于用T4 DNA Ligase进行常规连接1小时。快速连接产物可直接用于常规的细菌转化实验。

注意事项

1. 本试剂盒能使大多数连接反应在25℃条件下5分钟甚至更短时间内达到反应终点, 增加反应时间反应效率不会增强。如用快速连接反应1小时后, 转化效率会明显降低; 如25℃快速连接反应过夜, 则转化效率会下降到75%。
2. 2×Quick Ligation Reaction Buffer含有ATP, 使用前置于冰上使其融化后充分混匀, 建议初次使用分装成小管冻存, 避免其反复冻融影响DNA连接效率。
3. 由于T4 DNA Ligase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。
4. 如快速连接产物用于电转, 快速连接反应体系中的PEG会影响电转效率, 建议使用离心柱将连接产物进行DNA纯化后再进行电转。

使用方法

成分	20 μl体系
Vector DNA	X μl (10-100) ng
Insert DNA	Y μl
2×Quick Ligation Reaction Buffer	10 μl
Quick T4 DNA Ligase (15U/μl)	1 μl
RNase-Free Water	补足至20 μl

1. 按以下体系配制反应液:

*Insert DNA的使用量: Vector DNA和Insert DNA的摩尔比一般为1:3-1:8, 可根据实验情况选择适当的Vector DNA和Insert DNA的摩尔数比。DNA摩尔数计算方式: DNA摩尔数 (nmol) = DNA质量 (ng) / (660 daltons × 插入DNA碱基数bp)。

2. 轻轻混合, 短暂离心。25℃反应5分钟。

注意: 反应时间不要超过15分钟, 否则会降低连接效率。

3. 勿进行加热失活反应。瞬间离心, 将管壁上的溶液收集到管底。

注意: 因缓冲液中含有PEG, 加热失活会显著降低转化效率。

4. 反应结束后, 将DNA连接产物存放于0-4℃, 而后进行转化实验; 也可将DNA连接产物置于-20℃保存。

注意: 用化学法转化时, 连接产物的加入量不要超过感受态细胞体积的10%。

5. 将连接产物热击转化50 μl感受态细胞或取1-2 μl连接产物电击转化50 μl感受态细胞。

注意: 1) 用化学法转化时, 连接产物的加入量不要超过感受态细胞体积的10%。

2) 如快速连接产物用于电转, 因快速连接反应体系中的PEG会影响电转效率, 建议使用离心柱将连接产物进行DNA纯化后再进行电转。