

无甘油T4 DNA连接酶 (HC) 产品处理指南

运输:	蓝冰
货号:	MDX200
批号:	见瓶身
浓度:	3300 U/ μ L (50 Weiss单位/ μ L)

储存温度: -20°C



储存和稳定性:

无甘油T4 DNA连接酶 (HC) 采用蓝冰运输。到货后储存于-20°C下, 以获得最佳稳定性。应避免反复冻融循环。

有效期:

在外包装盒标签上的有效期内, 在推荐条件下储存并正确处理时, 试剂盒可保持完整活性。

安全防护措施:

处理试剂前请阅读并理解SDS (安全数据表)。首次发货时提供SDS的纸质版文件, 此后可应要求提供。

质控:

Meridian遵守ISO 13485质量管理体系运行。无甘油T4 DNA连接酶 (HC) 活性可使用PCR检测消化后的 λ DNA的还原效率来测定。无甘油T4 DNA连接酶 (HC) 在放行前已经过纯度、核酸外切酶和核酸内切酶污染测试。

注:

仅供科研和进一步生产使用。

产品描述

Meridian无甘油T4 DNA连接酶 (HC) 专用于在室温 (25°C) 下仅需15分钟和10分钟即可连接钝端和粘性末端片段。无甘油T4 DNA连接酶 (HC) 可用于进行连接体连接、线性化质粒的再连接以及双链寡核苷酸与载体的连接。该酶能够将大多数来源的达100 ng的片段 (包括PCR片段、质粒、粘粒、基因组、噬菌体和病毒DNA) 快速连接到原核或真核质粒载体和噬菌体 λ 载体中。

产品组分

表 1.

试剂

无甘油T4 DNA连接酶 (HC)

连接方案:

- 在室温下按以下顺序将反应试剂装入微量离心管中:
 - 将载体和插入片段按适当比例混合, 使其不超过100 ng DNA。
 - 用ddH₂O调节体积至15 μ L。
 - 加入0.1-1 μ L无甘油T4 DNA连接酶 (HC)。如有需要, 用1x反应缓冲液稀释连接酶。
 - 加入4 μ L 5x MDX204可冻干连接酶反应缓冲液 (使用前务必涡旋)。
- 通过移液充分混合。
- 在室温下孵育10分钟以获得黏性末端, 或孵育15分钟以获得钝末端。转化反应。
- 可选: 在进行DNA转化反应之前, 将2.5-5 μ L连接酶混合液置于琼脂糖凝胶上检测连接效率。
- 产品可用于转化 (或在-20°C下储存)。
无需热灭活。

注

- 使用前务必涡旋5x MDX204可冻干连接酶反应缓冲液。
- 避免多次冷冻/解冻酶和缓冲液。
- 由于Mg/ATP比率是反应成功的关键, 因此应避免使用EDTA浓度高于0.1 mM的DNA溶液。

一般注意事项:

- 制备载体和插入片段DNA分子: 为了有效连接, DNA分子的末端必须兼容。制备载体, 插入片段DNA分子, 通过限制性消化、PCR扩增或其他物理/酶法获得。为了将载体和插入片段与其他污染分子分离, 应使用电泳提取、物理提取或有机提取然后采用乙醇沉淀法来纯化待连接的DNA。纯化后, 应对DNA进行定量。
- 载体DNA分子的去磷酸化: 在进行钝端连接时, 对载体去磷酸化 (去除5'-磷酸基团) 可能有利于防止自连接。
- PCR扩增产物的克隆: 制备连接片段的一个简单方法是在PCR引物5'-端附近掺入限制性内切酶位点, 并在扩增后进行消化。或者, 在使用去磷酸化载体时, 可将磷酸基团加入PCR所用引物的5'末端或扩增产物。
- 载体DNA与插入片段DNA的比例: 理想的载体-插入片段或噬菌体-插入片段比率可根据经验确定, 但一般而言, 载体与插入片段连接的摩尔范围为1:3, 或载体臂与插入片段噬菌体连接的摩尔范围为8:1。对于PCR产物的首次克隆, 建议载体-插入片段连接的比例为1/10至1/100。
- ATP浓度: ATP存在于5x MDX204可冻干连接酶反应缓冲液中, 该缓冲液经过优化, 有利于T4 DNA连接酶发挥最佳性能。
- 连接反应的酶处理: 连接后, DNA分子可用任何酶处理, 而不会受到5x MDX204可冻干连接酶反应缓冲液干扰的危险。

相关产品

可冻干连接酶反应缓冲液, 5x

货号

MDX204

技术支持

如有任何技术问题, 请发送电子邮件联系我们的技术支持团队:
mbi.tech@meridianlifescience.com。

冻干和冻干后使用指南



本文件中的指南可帮助用户避免冻干过程中的问题。有关这些预冻干产品的储存和稳定性、有效期和一般处理方法，请参阅各产品处理指南。

安全预防措施：

处理试剂前请阅读并理解SDS（安全数据表）。这些安全数据表的副本可在我们官网上查阅或根据请求获得。

产品描述

Meridian无甘油T4 DNA连接酶（HC）专用于在室温（25°C）下仅需15分钟和10分钟即可连接钝端和粘性末端片段。无甘油T4 DNA连接酶（HC）可用于进行连接体连接、线性化质粒的再连接以及双链寡核苷酸与载体的连接。该酶能够将大多数来源的达100 ng的片段（包括PCR片段、质粒、粘粒、基因组、噬菌体和病毒DNA）快速连接到原核或真核质粒载体和噬菌体λ载体中。

冻干方案

在室温下按以下顺序将反应试剂装入微量离心管中：

- 按表1所示顺序混合试剂。所示体积足以进行20x20 μL反应。
- 在微量离心机中彻底涡旋并脉冲离心。
- 将混合液置于冰上，直至准备分装。
- 取5 μL混合液等分至适当容器中并离心。
- 请参阅《MDX200冻干和冻干后使用指南》了解建议的冻干循环条件。
- 在室温下密封并储存冻干材料，待用。
- 向每个装有冻干材料的试管中加入模板DNA，并加入无核酸酶水至20 μL。
- 在微量离心机中短暂涡旋并离心。
- 在室温下孵育10分钟以获得黏性末端，或孵育15分钟以获得钝末端。必要时可延长孵育时间。

表 1

试剂名称	体积	工作浓度
可冻干连接酶反应缓冲液，5x	80 μL	4x
无甘油T4 DNA连接酶（HC）	2 - 20 μL	66—650 U/μL
水	最终100 μL	

冻干

- 表1中的冻干循环方案适用于在标准反应管和反应板中加入5x MDX204可冻干连接酶反应缓冲液中的无甘油T4 DNA连接酶（HC）的冻干过程。这些参数仅供参考，应根据不同的用户格式和系统进行优化。
- 在冷冻步骤中可添加退火步骤，以帮助非晶质材料结晶。
- 初级干燥和二次干燥的综合时间可延长至24小时。
- 对于含有赋形剂的产品，无需再添加任何赋形剂来协助冻干。

表 2. 冻干指南

步骤	温度	时间	产品描述
冷冻	+4°C	10 min	恒温
	-45°C	1.0°C/min	升温
初级干燥	-45°C	180 min	恒温
	-40°C	0.5°C/min	升温
	-40°C	720 min	恒温
二次干燥	+25°C	0.5°C/min	升温
	+25°C	240 min	恒温

冻干后

为了最大限度延长有效期，我们建议在惰性气体条件下（如氮气或氩气）包装冻干材料，并放入干燥剂袋以提高稳定性。包装袋应热封并贴上标签。