



Rapid DNA Ligation Kit

DNA 快速连接试剂盒

版本号: V220901

货号: A502
 保存: -20°C
 运输: 低温

货号	规格
A502-01	50 rxn
A502-04	200 rxn

【产品概述】

Rapid DNA Ligation Kit 包含了高浓度 T4 连接酶 (2,000U/μl) 和连接反应 Buffer, 可在常温 (25°C) 下反应 5-15 min 内高效地将粘性末端和平末端 DNA 插入片段与质粒载体连接。使用本试剂盒的连接产物, 可以免除连接 DNA 转化前的进一步纯化。本产品适用于: 具有复杂结构的 DNA 片段与载体快速高效连接; NGS 文库构建; Adaptor 连接等。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A502-01	A502-04
ZA502-101	T4 DNA Ligase (2,000U/μl)	50 μl	50 μl×4
ZA502-102	2×Rapid Ligation Buffer ^a	500 μl	500 μl×4
ZA502-103	10×T4 DNA Ligase Buffer ^b	100 μl	100 μl×4

^a1×Rapid Ligation Buffer 成分: 66 mM Tris-HCl (pH7.6 @ 25°C), 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 1.1 mM ATP, 7.5% 聚乙二醇 (PEG 4000)。

^b1×T4 DNA Ligase Buffer 成分: 50 mM Tris-HCl (pH7.5 @ 25°C), 10 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 1.1 mM ATP。

【保存条件】

-20°C 保存, 保质期 24 个月。

【操作步骤】

本实验以质粒和 DNA 片段连接反应为例:

注: 通常 2×Rapid Ligation Buffer 连接效率更高, 如有特殊需求可用 10×T4 DNA Ligase Buffer。以下实验选用 2×Rapid Ligation Buffer。

1. 在冰上微量离心管中配制如下连接反应体系:

组分	10 μl 反应体系	备注
Vector (如: 6 kb) ^a	80 ng	^a 根据插入 DNA 片段和载体分子量, 在反应体系中按 1:3
Insert (如: 0.5 kb) ^a	20 ng	-1:10 的摩尔比加入载体和插入片段。
2×Rapid Ligase Buffer ^b	5 μl	^b 2×Rapid Ligation Buffer 融解混匀后使用。
T4 DNA Ligase (2,000U/μl) ^c	0.5 μl	^c T4 DNA Ligase (2,000U/μl) 在反应体系中应最后加入。
Sterile Water	补足至 10 μl	

2. 上下吸打混匀反应液并瞬时离心。
3. 置于室温 (25°C) 孵育: 粘性末端连接孵育 5 min, 平末端或单碱基突出末端连接孵育 15 min。
4. 将 1-5 μl 反应产物转化至 100 μl 感受态细胞。于 -20°C 长期保存。

注: 不要通过热失活终止连接反应, 否则会显著降低转化效率。

【注意事项】

1. 使用 DNA 快速连接试剂盒, 大多数连接反应能在 25°C 条件下 5 min 甚至更短时间内达到反应终点, 增加反应时间不会提高反应效率。实际上, 连接 1 h 后转化效率会降低, 如果 25°C 过夜反应, 转化效率会下降 75%。
2. 电转化可以数量级地提高转化效率, 但使用 2×Rapid Ligase Buffer 的连接产物需纯化或透析后才能进行电转化。
3. T4 DNA 连接酶的辅因子是 ATP, 反应 Buffer 中含有 ATP, 不宜反复冻融, 建议分装保存。
4. 由于 T4 DNA Ligase (2,000U/μl) 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。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。