

产品说明

在相邻 DNA 链的 5'-磷酸末端和 3'-羟基末端形成磷酸二酯键。该 DNA 连接反应只有当两条寡核苷酸链与互补靶 DNA 完全配对，并且两条寡核苷酸链之间没有空隙的条件下才可发生。对单链 DNA 或 RNA 和平末端 DNA 不具有活性。因此，可以用它来检测单碱基突变。Taq DNA 连接酶以 NAD⁺ 为辅因子。在 37-75°C 范围内，Taq DNA 连接酶均有活性。。高热稳定性允许用高密度杂交条件进行连接，在高特异性和严格性下进行 SNPs 的精准检测。

本公司 Taq DNA ligase 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 45°C 下，1× Taq DNA ligase 反应缓冲体系下，15 min 内能使 50% 的 1 μg 经 BstEII 消化的 λDNA 片段（12 bp 粘性末端）发生连接所需要的酶量。

活性测定条件

20 mM Tris-HCl, 25 mM KAc, 10 mM Mg(Ac)₂, 10 mM DTT, 1 mM NAD 和 0.1% Triton X-100 (pH 7.6 @ 25°C)，45°C 温育。

浓度: 40U/μl

保存条件: -20°C 可保存 2 年，避免反复冻融

特点与适用范围

- 耐热性好
- 用于 Gibson 组装方法
- dsDNA 切刻连接修复
- 可用连接酶链式反应（ligase chain reaction, LCR）、连接酶检测反应，检测等位基因特异性

产品包装规格及组成

Component	AE1308A	AE1308B
Taq DNA Ligase	2000U	10000U
5× NAD 型 DNA Ligase Buffer	0.3ml	1.5ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶贮存缓冲液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 200 μg/ml BSA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C

注意事项

- Taq DNA 连接酶可以有效连接 12 bp 的互补片段，但无法连接 4 bp 的互补片段（典型限制酶消化产物）。
- 反应条件: 将 DNA 和酶在 45°C 的 1× Taq DNA 连接酶缓冲液中或在热循环仪中孵育 15 分钟，用 50% 甘油，50 mM EDTA，溴酚蓝的混合物终止反应。
- 1× Taq DNA 连接酶反应缓冲液需要 NAD⁺ 作为辅助因子。NAD⁺ 在 10× Taq DNA 连接酶反应缓冲液中提供；缓冲液应储存在 -80°C 下以延长 NAD⁺ 辅因子的半衰期。

相关产品

AE1310: 9° N DNA ligase 等

应用实例

1. 连接反应

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
5× Buffer	4
底物：互补粘性末端>8nt 的 DNA	100ng-1μg
Taq DNA ligase (40U/μl)	1-2
H ₂ O	Variable
总体积	20

2) 45-50°C 连接 15min

3) 对于较长的双链 DNA 底物，琼脂糖电泳检测连接产物；对于短于 100bp 的短片段 DNA，聚丙烯酰胺凝胶电泳检测连接产物。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。