

产品说明

Ec DNA 连接酶来源于大肠杆菌，分子量为 77kDa，催化双链 DNA 中 5'-磷基和 3'-羟基之间形成磷酸二酯键的 DNA 连接酶。作用与 T4 DNA Ligase 相同，但以 NAD⁺为辅酶。最适反应 pH 为 7.5-8.0 (Tris-HCl buffer)。与 T4 DNA Ligase 可连接粘性末端和平末端相比，本酶只能催化粘性末端 DNA 之间的连接，但如果在 PEG 及高浓度一价阳离子存在的条件下，也能连接平滑末端的 DNA。与 T4 DNA Ligase 能将 DNA 的 5'-P 末端与 RNA 的 3'-OH 以及 RNA 的 5'-P 末端与 DNA 的 3'-OH 连接不同，本酶不能催化 DNA 与 RNA 以及 RNA 之间的连接。对单链 DNA 或 RNA 和平末端 DNA 不具有活性。由于当寡核苷酸与互补的靶 DNA 不完全配对时，也会发生一定比例的连接反应，因此不推荐用于 SNPs 的精准检测。

本公司 Ec 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 单位指在温度为 16°C，20ul 的 1× Ec DNA ligase Buffer 缓冲体系的反应条件下，30 min 内能连接 50%被 HindIII 消化的 6ug λ DNA 片段 [5'端浓度为 0.12 μM (300 μg/ml)] 所测的酶量。

活性测定条件

30 mM Tris-HCl (pH 8.0 @ 25°C)，4 mM MgCl₂，1 mM DTT，26 uM NAD⁺，50 μg/mL BSA，反应温度 16°C。

浓度: 10U/μl

保存条件: -20°C

特点

- 优先连接 dsDNA 中的缺口，而非显著连接两个 dsDNA 片段；
- 热失活: 65°C加热 20min。

适用范围

- dsDNA 切刻修复；
- Okayama 和 Berg cDNA 克隆。

产品包装规格及组成

Component	AE1311A	AE1311B
Ec DNA ligase	2000U	10000U
10× Ec DNA ligase Buffer	0.5ml	1.0ml×2

质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

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

- 本产品需要辅助因子 NAD⁺参与反应
- 本产品不适合平末端片段连接，如需连接平末端片段，请使用 T4 DNA ligase (AE1301)
- Buffer中的BSA 在-20°C下易产生沉淀，应尽量避免多次反复冻融。短期使用请在 4°C 下保存。产生稍许沉淀不影响反应效果。

相关产品

AE1301: T4 DNA ligase

应用实例

1. DNA 连接反应

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× Buffer	2
粘性末端 DNA	100ng-1μg
Ec DNA ligase (10U/μl)	1-2
H ₂ O	Variable
总体积	20

2) 16°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。