

产品说明

高盐型 DNA 连接酶除了具有 DNA 连接酶的其他特点外，具有耐受高浓度盐的特性。可以催化双链 DNA 中 5'-磷基和 3'-羟基之间形成磷酸二酯键的 DNA 连接酶，以 NAD⁺为辅酶，作为反应的能量来源。只有当寡核苷酸与互补的靶 DNA 完美配对，并且它们之间没有间隙时，才会发生连接。相比其它 DNA 连接酶，该酶在高盐浓度下活性更高（配备了 2×buffer，用于增加盐浓度，提高活性）。

本公司高盐型 DNA 连接酶是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

在 20 μl 反应体系中，37℃ 条件下，15 分钟内能使 50% 的 1 μg 经 BstEII 消化的 λ DNA 片段（12 bp 粘性末端，相当于 0.0338 pmole）发生连接所需要的酶量定义为 1 个活性单位。

活性测定条件

20 mM Tris-HCl(pH 7.6), 2.4M KCl, 25 mM Potassium Acetate, 10 mM Magnesium Acetate, 1 mM NAD⁺, 10 mM DTT, 0.1% TritonX-100, 45℃ 温育。

浓度：40U/μl

保存条件：-20℃。

特点

- 耐热性好；
- 耐受高浓度 KCl

应用范围：

- DNA 连接反应
- SNP 检测
- 可在超高KCl浓度下连接DNA链上的切刻位点

产品包装规格及组成

Component	AE1312A	AE13124B
耐盐型 DNA Ligase	2000U	10000U
5×NAD型 DNA Ligase Buffer	0.3 ml	1.5 ml
4M KCl	0.5 ml	1.5 ml

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH8.0), 150 mM NaCl, 1 mM DTT, 50% glycerol.

注意事项

- 本DNA Ligase 耐受超高浓度KCl，高达2M KCl下仍具有很高活性
- 该酶低盐浓度下活性较低，建议KCl浓度不低于1M，最好在1.5-2.5M。

相关产品

AE1307: Pfu DNA ligase; AE1308: Taq DNA ligase, AE1310: 9°N 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
5× Buffer	4
4M KCl	终浓度 1.5-2.5M
底物：互补粘性末端 DNA	100ng-1μg
耐盐型 DNA ligase (40U/μl)	1-2
H ₂ O	Variable
总体积	20

2) 37°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。