

Taq DNA Ligase

REF: EG20201S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
Taq DNA Ligase (40 U/μl)	25 μl
10× Taq DNA Ligase Buffer	1 ml

注: 1 U=1 Weiss unit

产品简介

Taq DNA Ligase 是一种耐高温连接酶，它能催化与同一互补靶 DNA 链杂交的两条相邻寡核苷酸链的 5' - 磷酸和 3' - 羟基之间形成磷酸二酯键。该催化反应只有当两条寡核苷酸链与互补靶 DNA 完全配对，且两条寡核苷酸链之间没有间隙的条件下才会发生。因此，可以用于单碱基替换检测。Taq DNA Ligase 以 NAD⁺ 为辅酶因子，在 45~65°C 范围内均有活性。

酶活单位定义

在 50 μl 反应体系中，45°C 条件下温育 15 min 能使 50% 的 1 μg 经 BstEII 消化的 λDNA 片段发生连接所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

酶活检测条件

将 DNA 底物 (20 ug/ml) 和 1× Taq DNA Ligase 反应缓冲液 45°C 温育 15 min，加入终止染液 (50% 甘油，50 mM EDTA 和溴酚兰) 终止反应，70°C 加热 10 min 后经 0.7% 琼脂糖凝胶电泳，由于连接反应，经 BstEII 消化的 λDNA 粘端在 70°C 温育后仍将保持在一起。

质量控制

核酸内切酶残留测试

在反应体系中加入超螺旋的 DNA 底物，孵育 4 h，经琼脂糖凝胶电泳，无肉眼可见的环状切口 DNA 出现。

核酸外切酶残留检测

将酶液与双链 DNA 底物在 37°C 温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

宿主检测

将酶液中残留的核酸经 E.coli 16S rDNA 特异性的 TaqManqPCR 检测，E.coli 基因组残留低于 10 拷贝。

使用方法

① 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
DNA	up to 1 μg
10× Taq DNA Ligase Buffer	5 μl
Taq DNA Ligase	2 μl
ddH ₂ O	To 50 μl

② 充分混匀并瞬离，45°C 温育 15 min；

③ 加入终止液 (50% 甘油，50 mM EDTA 和溴酚兰) 终止反应，不可热失活。