

微信订购: 扫一扫右侧二维码

网站订购: www.cwbio.com 服务热线: 4006-222-360



版本号: 01/2021

Quick DNA Ligation Kit 快速DNA连接试剂盒

目录号: CW2592S (20 rxns)

CW2592M (100 rxns)

保存条件: -20℃

产品内容

Component	CW2592S	CW2592M
	20 rxns	100 rxns
Quick T4 DNA Ligase (15 U/µI)	20 µl	100 µl
2×Quick Ligation Reaction Buffer	200 µl	5×200 µl

产品简介

快速连接试剂盒在室温(25℃)反应5分钟可完成DNA粘性末端或平齐末端的连接反应。试剂盒含有Quick T4 DNA Ligase和为快速高效DNA连接优化的2×Quick Ligation Reaction Buffer。快速连接的连接效率相当于用T4 DNA Ligase 进行常规连接1小时。快速连接产物可直接用于常规的细菌转化实验。

注意事项

- 本试剂盒能使大多数连接反应在25℃条件下5分钟甚至更短时间内达到反应终点,增加反应时间反应效率不会增强。如用快速连接反应1小时后,转化效率会明显降低;如25℃快速连接反应过夜,则转化效率会下降到75%。
- 2. 2×Quick Ligation Reaction Buffer含有ATP,使用前置于冰上使其融化后充分混匀, 建议初次使用分装成小管冻存,避免其反复冻融影响DNA连接效率。
- 3. 由于T4 DNA Ligase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。
- 4. 如快速连接产物用于电转,快速连接反应体系中的PEG会影响电转效率,建议使用离心柱将连接产物进行DNA纯化(如CW2301快速DNA产物纯化试剂盒)后再进行电转。

使用方法

1. 按以下体系配制反应液:

成分	20 µl 体系
Vector DNA	X μl(10-100 ng)
Insert DNA	ΥµΙ
2×Quick Ligation Reaction Buffer	10 μΙ
Quick T4 DNA Ligase (15 U/µI)	1 µl
RNase-Free Water	补足至 20 μl

*Insert DNA的使用量: Vector DNA和 Insert DNA的摩尔比一般为1:3-1:8,可根据实验情况选择适当的Vector DNA和 Insert DNA的摩尔数比。DNA摩尔数计算方式: DNA摩尔数(nmol)=DNA质量(ng)/(660 daltons×插入DNA碱基数bp)。

2. 轻轻混合, 短暂离心。25℃反应5分钟。

注意:反应时间不要超过15分钟,否则会降低连接效率。

3. 勿进行加热失活反应。瞬间离心,将管壁上的溶液收集到管底。

注意:因缓冲液中含有PEG,加热失活会显著降低转化效率。

4. 反应结束后,将DNA连接产物存放于0-4℃,而后进行转化实验;也可将DNA连接产物置于-20℃保存。

注意:用化学法转化时,连接产物的加入量不要超过感受态细胞体积的10%。

5. 将连接产物热击转化50 µl感受态细胞或取1-2 µl连接产物电击转化50 µl感受态细胞。

注意:1)用化学法转化时,连接产物的加入量不要超过感受态细胞体积的10%。

2)如快速连接产物用于电转,因快速连接反应体系中的PEG会影响电转效率,建议使用离心柱将连接产物进行DNA纯化(如CW2301快速DNA产物纯化试剂盒)后再进行电转。

本产品仅供科研使用,请勿用于临床诊断及其他用途