

Quick Ligation (5x)

货号 CAT	品名	规格
TE012	QuickLigation(5X)	100Tests

贮存条件:

低温运输: -20℃贮存, 有效期 3 年。

生产日期: 见包装

产品简介:

Quick Ligation 是把 DNA 片段在短至 5 分钟内快速插入到载体 (vector)中的连接试剂盒。对于双粘端 DNA 片段的插入仅需 5 分钟即可完成, 对于双平端 DNA 片段的插入仅需 15 分钟即可完成连接反应液不必经过 DNA 纯化, 可直接用于细菌的转化。

适用:

PCR产物或酶切片段和普通载体的连接

PCR产物和T载体的连接

Linker或RNAi片段和载体的连接

DNA自身环化的连接

应用举例: (酶切片段与普通载体连或 PCR 产物与 T 载体连接)

酶切载体	10ul
插入片段	6ul
5X QuickLigation	4ul
总体积	20ul

(只要确保插入片段与载体 mol 比 3~10 之间, 不必拘泥标准的反应体系。例如酶切载体 15ul, 插入片段 18ul, 两者之和为 33ul, $33ul \div 4=8.25ul$, 8.25ul 就是要加入 5x QuickLigation)

混匀后, 20℃~26℃孵育连接5-10分钟或更长时间。不要高于26℃, 低于20℃可以适当延长延长时间, 4℃连接可以过夜。20℃~26℃孵育粘末端15分钟足够; 平末端孵育30分钟足够。连接完后直接转入细菌不必纯化

注意事项

1. 接头 (Linker、Adaptor) 连接, 比例 DNA Fragment: Linker (或 adaptor) = 1:100 以上
2. 电转化或需要酶切, 则需先做乙醇沉淀, 再用适当的缓冲液重悬 DNA。
3. 连接反应完成后即可直接转化细菌, 请勿采用加热方法失活 Rapid T4 DNA ligase。加热处理会导致后续的转化效率显著下降。
4. 对于载体单酶切插入外源片段的情况, 需注意对载体进行脱磷处理, 以避免质粒自连。