

产品说明

T7 DNA 连接酶来源于 T7 噬菌体，它是一种 ATP 依赖型双链 DNA 连接酶，该酶可催化双链 DNA 相邻 5' 磷酸末端和 3' 羟基基团之间形成磷酸二酯键。T7 DNA 连接酶可以有效地催化粘性末端和缺口的连接。与 T4 和 T3 DNA 连接酶不同，T7 DNA 连接酶不能有效地催化平末端连接。因此，在实验过程中，当平末端和粘性末端同时存在时，仅需粘性末端发生连接，T7 DNA 连接酶是理想的选择。

本公司 T7 DNA ligase 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

在 20 μ l 1 $\times$ T7 DNA 连接酶反应缓冲液中，25 $^{\circ}$ C 反应条件下，30 分钟能使 50% 的经 HindIII 消化的 3 μ g λ DNA 片段 [相当于 5' 端浓度为 0.06 μ M (150 μ g/ml)] 连接所需的酶量，定义为 1U。NEB 公司的 1 单位指温度为 25 $^{\circ}$ C，20 μ l $\times$ T7 DNA ligase Buffer 缓冲体系的反应条件下，30min 内能连接 50% 的被 Hind III 消化的 100 ng λ DNA 片段所需的酶量。因此，本公司 T7 DNA 连接酶浓度是 NEB 公司 T7 DNA 连接酶浓度的 30 倍，与 NEB 的 T3 DNA ligase 的活性单位定义相当。

活性测定条件

66 mM Tris-HCl, 1 mM ATP, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 7.5% PEG 6000 (pH 7.6 @ 25 $^{\circ}$ C), 25 $^{\circ}$ C 温育。

浓度：100U/ μ l

保存条件：-20 $^{\circ}$ C

特点

- 只用于连接粘性末端；
- 热失活：65 $^{\circ}$ C 加热 10min。

适用范围

- 限制性内切酶克隆
- 向 dsDNA 添加接头或适配器
- 线性 DNA 的环化
- 双链 DNA 中的缺口封接
- 定点诱变

产品包装规格及组成

Component	AE1305A	AE1305B
T7 DNA ligase	2000U	10000U
2 $\times$ AM Buffer F (Fast DNA Ligase Buffer)	0.2ml	1.0ml

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 μ g/ml BSA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25 $^{\circ}$ C。

注意事项

- 本产品需要辅助因子 ATP 参与反应
- PEG 对所做实验影响较大时，可使用 T4 DNA ligase (AE1301) Buffer，但活性降低 10 倍，需要维持高 NaCl 浓度的实验，不建议使用含 PEG 的 Buffer

- 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）

相关产品

AE1301: T4 DNA ligase

应用实例

1. 连接酶克隆

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× Buffer	2
载体	50ng
基因片段	50ng-150ng
T7 DNA ligase (100U/μl)	1-2
H ₂ O	Variable
总体积	20

2) 如为粘末端连接反应，25°C 连接 3 小时，或 4°C 连接过夜；

3) 连接产物直接用于转化（或冻存于-20°C）。

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。