

## Taq DNA Ligase

产品编号	产品名称	包装
D7023S	Taq DNA Ligase	2KU
D7023M	Taq DNA Ligase	10KU
D7023L	Taq DNA Ligase	40KU

### 产品简介:

- 碧云天生产的Taq DNA Ligase, 即Taq DNA连接酶, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种热稳定的以NAD (烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)为辅助因子的缺刻DNA连接酶。Taq DNA ligase能够有效催化与同一互补DNA链完全配对结合并且没有gap的两条相邻单链DNA的5'-磷酸和3'-羟基之间连接形成磷酸二酯键[1-3]。Taq DNA ligase基于其特性常被用于检测单碱基的变异, 例如单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)检测。
- Taq DNA Ligase具有良好的热稳定性, 在37-75°C范围内均有活性[1-3]。
- 碧云天生产的Taq DNA Ligase用于连接BstEII酶切后的λDNA的效果参考图1。

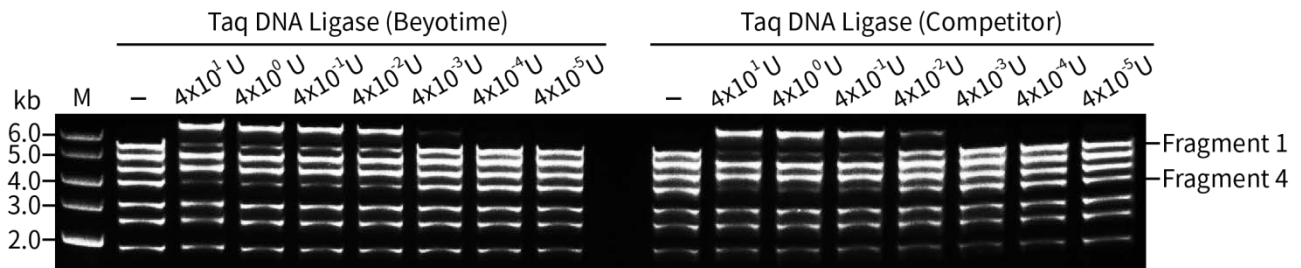


图1. 碧云天生产的Taq DNA Ligase用于连接BstEII酶切后的λDNA的效果图。使用本产品或N公司(Competitor)的Taq DNA Ligase, 在20μl反应体系(20mM Tris-HCl, 25mM Potassium Acetate, 10mM Magnesium Acetate, 1mM NAD, 10mM DTT, 0.1% Triton X-100 (pH7.6 @25°C))中, 加入200ng经BstEII酶切的λDNA, 再加入2μl的10X Reaction Buffer以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的Taq DNA Ligase, 然后用超纯水(ST873)补至20μl, 45°C孵育15分钟进行连接。反应结束后, 立即加入DNA上样缓冲液(6X) (D0071)以终止反应, 随后进行1%琼脂糖凝胶电泳检测, 拍照观察结果。实验结果表明, Taq DNA Ligase能够对经BstEII酶切后的λDNA所产生的两条片段(Fragment 1和Fragment 4)进行有效连接, 且本产品与N公司(Competitor)的Taq DNA Ligase相比, 具有类似的连接BstEII酶切后的λDNA的效果。本图仅供参考, 实际检测效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- **用途:** 通过引物延伸扩增掺入磷酸化寡核苷酸进行突变; 同源重组; 双链DNA缺刻的修复; 通过连接酶检测反应和连接酶链式反应进行等位基因分型检测(SNP分型检测等)。
- **来源:** 纯化自携带有 *Thermus thermophilus* HB8的连接酶基因的 *E.coli*重组菌株[1,4]。
- **酶活性:** Taq DNA Ligase catalyzes the formation of a phosphodiester bond between the 5'-phosphate and the 3'-hydroxyl of two adjacent DNA strands. The strands to be ligated need to be hybridized and accurately paired, with no gap, to a complementary DNA strand. Taq DNA Ligase is active at 37-75°C.
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to give 50% ligation of the 12-base pair cohesive ends of 1μg of BstEII-digested λDNA in a total reaction volume of 50μl in 15minutes at 45°C.
- **纯度:** 不含除Taq DNA Ligase之外的其它种类的DNA连接酶, 不含DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶, 不含磷酸酯酶。
- **酶储存液:** 10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 200ug/ml BSA, 50% Glycerol (pH7.4 @25°C)。
- **10X Reaction Buffer:** 200mM Tris-HCl, 250mM Potassium Acetate, 100mM Magnesium Acetate, 10mM NAD, 100mM DTT, 1% Triton X-100 (pH7.6 @25°C)。
- **失活或抑制:** 不能进行热失活, 需加入终止染液(50% Glycerol, 50mM EDTA, 50mM Bromophenol Blue)终止反应。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7023S-1	Taq DNA Ligase (40U/μl)	50μl
D7023S-2	10X Reaction Buffer	0.25ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7023M-1	Taq DNA Ligase (40U/μl)	250μl
D7023M-2	10X Reaction Buffer	1.25ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7023L-1	Taq DNA Ligase (40U/μl)	1ml
D7023L-2	10X Reaction Buffer	5ml
—	说明书	1份

### 保存条件：

-20°C保存，两年有效。10X Reaction Buffer如果长期不使用，建议保存于-80°C。

### 注意事项：

- 10X Reaction Buffer中的DTT和NAD会逐渐发生反应并变成黄棕色，颜色变化并不影响酶反应体系的活性效果。确保每次使用完毕尽快冻存即可。
- Taq DNA Ligase发挥其催化活性需要以NAD作为辅助因子。本产品提供的10X Reaction Buffer中含有NAD，如果长期不使用，建议保存于-80°C以减缓NAD的降解。
- Taq DNA Ligase不能代替T4 DNA Ligase进行双链DNA的连接反应。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

1. 参考下表在冰浴中配制反应体系(以50μl体系为例)。

Reagent	Volume
10X Reaction Buffer	5μl
Ultrapure Water	(43-x)μl
DNA	xμl (up to 1μg)
Taq DNA Ligase (40U/μl)	2μl (80U)
Total Volume	50μl

注：建议最后添加Taq DNA Ligase。

2. 轻轻震荡混匀或移液器轻轻吹打混匀，随后低速离心以使粘附在管壁上的液体聚集于管底。
3. 反应条件：45°C孵育15分钟。
4. 终止反应：反应完成后可加入终止染液(50% Glycerol, 50mM EDTA, 50mM Bromophenol Blue)或DNA上样缓冲液(6X)(D0071)以终止反应，或者也可以直接-20°C冻存储用。

### 常见问题：

1. Taq DNA Ligase是否可以用于什么特殊技术？  
可以。Taq DNA Liagse可被用于连接酶链式反应(Ligase chain reaction, LCR)和连接酶检测反应(Ligase detection reaction, LDR)。通常情况下，单个碱基的变化可以通过一个配对的探针和另一个与被分析的碱基配对的探针末端碱基相遇并可以被连接的方式从而被检测到。如果末端碱基相互配对，Taq DNA Ligase可以将两个探针进行连接；如果末端碱基不配对，那么Taq DNA Ligase不会将两个探针相连接。由于Taq DNA Ligase是热稳定型的连接酶，因此可以循环反应并扩增连接产物。
2. 使用Taq DNA Ligase时，在错配处发生连接的概率有多大？  
在错配时发生连接的概率最多为1.3%。
3. Taq DNA Ligase在多少个温度循环中依然能够保持活性？  
Taq DNA Ligase至少在30个循环中可以保持活性。
4. Taq DNA Ligase可以用于克隆构建吗？  
Taq DNA Ligase不能连接所有类型的DNA末端。推荐使用T4 DNA Ligase (D7006/D7008)用于克隆构建。
5. 为什么Taq DNA Ligase的连接缓冲液呈现黄棕色？  
如果连接缓冲液储存温度在-70°C以上，DTT和NAD会发生反应并变成黄棕色，颜色变化并不影响酶活性。
6. Taq DNA Ligase在不同温度下的活性分别有多少？

温度(°C)	活性(units/ml)
4	2000
16	8000-10000
25	12000
37	20000

45	40000
55	40000
65	64000
75	10000
85	3000-4000
95	500

7. Taq DNA Ligase在室温下的稳定性如何?

Taq DNA Ligase在室温条件下至少在一周内可以维持活性。

8. 什么是LCR及推荐使用哪种酶进行LCR?

LCR是一种类似于PCR的方法,可扩增DNA,并具有很广泛的诊断应用前景。LCR是一种连接依赖的方法,可以区分只有一个核苷酸(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)不同的DNA序列。在LCR中需要使用4种探针,一对探针需要与目标序列的每条链互补配对,并在SNP处区分识别连接点。进行该方法推荐使用热稳定型的DNA连接酶,如本产品Taq DNA Ligase。

9. 什么是LDR? LDR与LCR有什么不同?

LDR (Ligase detection reaction)是一种依赖连接的方法,与LCR (Ligase chain reaction)不同, LDR仅涉及与一条目标DNA链互补的一对探针。LDR中的循环导致连接产物的线性扩增。LDR可用于确认已通过另一种方法(如PCR)扩增的目标序列中是否存在特定SNP。与LCR一样, LDR方法需使用高保真热稳定连接酶用于区分错配探针的连接,如本产品Taq DNA Ligase。

10. 如何设计LDR或LCR的探针以最大限度地提高特异性?

用于LDR和LCR的探针应设计为在较窄的温度范围内(理想情况下<2°C)进行所有退火,且退火区域的长度应为15-30个碱基。通常,对于给定的探针组,为保证最高保真度,所需使用的最佳反应温度在Tm上下2°C范围内(Tm值需根据所使用的缓冲液条件计算)。

11. 热稳定性DNA连接酶如Taq DNA Ligase是否可以连接粘性末端?

Taq DNA Ligase可以连接具有较多碱基重叠的粘性末端,如噬菌体λ DNA的12bp粘性末端。由于II型限制性内切酶产生的典型4bp突出末端不是Taq DNA Ligase的适配底物,所以不会被连接。因此在常规的质粒构建实验中,不建议使用Taq DNA Ligase。

参考文献:

1. Barany F, Gelfand DH. Gene. 1991. 109(1):1-11.
2. Barany F. Proc Natl Acad Sci USA. 1991. 88(1):189-93.
3. Barany F. PCR Methods Appl. 1991. 1(1):5-16.
4. Takahashi M, Yamaguchi E, Uchida T. J Biol Chem. 1984. 259(16):10041-7.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0071	DNA上样缓冲液(6X)	2ml
D0072	BeyoRed DNA上样缓冲液(6X)	2ml
D0107	DNA Ladder (0.1-10kb, 21 bands)	100次
D0109	DNA Ladder (0.1-10kb, 21 bands, with BeyoRed)	100次
D0110	DNA Ladder (0.2-12kb, 12 bands)	100次
D0111	DNA Ladder (0.2-12kb, 12 bands, with BeyoRed)	100次
D0161S	BeyoGel™琼脂糖预制胶(1%, NA-Red, TAE, 8孔)	10块
D0163S	BeyoGel™琼脂糖预制胶(2%, NA-Red, TAE, 8孔)	10块
D7016S	<i>E. coli</i> DNA Ligase	200U
D7016M	<i>E. coli</i> DNA Ligase	1KU
D7016L	<i>E. coli</i> DNA Ligase	5KU
D6952S	牛痘DNA拓扑异构酶 I	200U
D6952M	牛痘DNA拓扑异构酶 I	1KU
D6952L	牛痘DNA拓扑异构酶 I	5KU
D7002	快速DNA连接试剂盒	100次
D7003	快速DNA连接试剂盒	500次
D7006	T4 DNA Ligase	40KU
D7008	T4 DNA Ligase	200KU
D7009S	Instant T4 DNA Ligase	40KU
D7009M	Instant T4 DNA Ligase	200KU
D7010S	Seamless Cloning Kit (无缝克隆试剂盒)	20次
D7010M	Seamless Cloning Kit (无缝克隆试剂盒)	100次
D7018S	PBCV-1 DNA Ligase	1250U
D7018M	PBCV-1 DNA Ligase	5KU

D7019L	PBCV-1 DNA Ligase	25KU
D7019S	T3 DNA Ligase	150KU
D7019M	T3 DNA Ligase	600KU
D7020L	T3 DNA Ligase	3000KU
D7020S	T7 DNA Ligase	150KU
D7020M	T7 DNA Ligase	600KU
D7020L	T7 DNA Ligase	3000KU
D7021	T4 RNA Ligase	200U
D7023S	Taq DNA Ligase	2KU
D7023M	Taq DNA Ligase	10KU
D7023L	Taq DNA Ligase	40KU
R0056-2ml	PEG8000 (50%, RNase free)	2ml
R0621S	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	1KU
R0621M	T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	5KU
R0632S	T4 RNA Ligase 2 (dsRNA Ligase)	1KU
R0635S	T4 RNA Ligase 2, truncated	5KU
R0635M	T4 RNA Ligase 2, truncated	20KU
R0635L	T4 RNA Ligase 2, truncated	100KU
R0700S	小RNA3'接头(5'腺苷化, 3'封闭及连接)试剂盒	20次
R0702S	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	1μg
R0702M	Universal miRNA Cloning Linker (5'腺苷化3'封闭)	5μg
SF1136-10mM	SCR7 (DNA ligase IV抑制剂)	10mM×0.2ml
SF1136-5mg	SCR7 (DNA ligase IV抑制剂)	5mg
SF1136-25mg	SCR7 (DNA ligase IV抑制剂)	25mg

Version 2023.05.15