



## Taq DNA ligase

### Taq DNA 连接酶

版本号: V241101

货号: T202  
保存: -20°C保存  
运输: 低温

货号	规格
T202-01	1000 U

#### 【产品概述】

*Taq* DNA 连接酶是一款耐热连接酶，能够催化与同一互补靶 DNA 链上的两条相邻寡核苷酸链的 5'-磷酸末端和 3'-羟基末端之间形成磷酸二酯键。*Taq* DNA 连接酶耐热性好，37-78°C 温度范围内均有活性。该酶不能进行热失活，需加入终止染液终止反应。基于 *Taq* DNA 连接酶的特性，可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）、同源重组、双链 DNA 缺刻的修复等。

#### 【产品组分】

组分货号	组分名称	T202-01
ZT202-101	<i>Taq</i> DNA ligase (40U/μl) <sup>a</sup>	25 μl
ZT202-102	10× <i>Taq</i> Ligase Reaction Buffer <sup>b</sup>	500 μl

<sup>a</sup> 储存缓冲液: 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 200 μg/ml BSA, 50% Glycerol。

<sup>b</sup> 10×*Taq* Ligase Reaction Buffer 组成成分: 200 mM Tris-HCl, 250 mM Potassium Acetate, 100 mM Magnesium Acetate, 10 mM NAD<sup>+</sup>, 100 mM DTT, 1% TritonX-100。

#### 【保存条件】

-20°C 保存，保质期 24 个月。10×*Taq* Ligase Reaction Buffer 如果长期不用，建议保存于 -80°C。

#### 【活性定义】

一个活性单位 (U) 定义为: 在 45°C 条件下，当总反应体积为 50 μl 时，15 min 能连接 50% 的 1 μg 经 BstEII 酶切的 λDNA 片段 (12 bp 粘性末端) 所需的酶量。

#### 【使用方法】

##### 1. 反应体系建立 (以 50 μl 反应体系为例)

注: 所有组分在融化后必须放置在冰上，在使用前需上下颠倒混匀并瞬时离心后开启。反应体系的建立必须在冰上完成。

组分	体积
DNA	Up to 1μg
10× <i>Taq</i> Ligase Reaction Buffer	5 μl
<i>Taq</i> DNA ligase (40U/μl)	2.5 μl
Sterile Water	补足至 50 μl

##### 2. 反应程序设置

45°C 温育 15 min，加入终止染液或 6×DNA 上样缓冲液 (Cat#E106) 终止反应。

注: 不要通过热失活终止连接反应，需要加入终止染液 (50% 甘油, 50 mM EDTA 和 50 mM 溴酚兰) 终止反应。

### 【补充说明】

1. 该酶需 NAD<sup>+</sup>作辅因子, 10×*Taq* Ligase Reaction Buffer 中已含 NAD<sup>+</sup>, 为延长 NAD<sup>+</sup>的半衰期, 该缓冲液应放-80℃贮存。
2. *Taq* DNA 连接酶不能替代 T4 DNA 连接酶。
3. 常见问题及解决方案

常见问题	解决方案
<i>Taq</i> DNA 连接酶可以用于克隆构建吗?	<i>Taq</i> DNA 连接酶不能连接所有类型的 DNA 末端。
为什么 <i>Taq</i> DNA 连接酶的连接缓冲液呈现黄棕色?	如果连接缓冲液储存温度在-80℃, DTT和NAD <sup>+</sup> 会发生反应并变成黄棕色, 颜色变化并不影响酶活性。
<i>Taq</i> DNA Ligase 在不同温度下的活性分别有多少?	4℃: 2,000 U/ml                      16℃: 8,000-10,000 U/ml              25℃: 12,000 U/ml 37℃: 20,000 U/ml                      45℃: 40,000 U/ml                      55℃: 40,000 U/ml 65℃: 64,000 U/ml                      75℃: 10,000 U/ml                      85℃: 3,000-4,000 U/ml 95℃: < 500 U/ml
<i>Taq</i> DNA 连接酶在室温下的稳定性如何?	<i>Taq</i> DNA 连接酶在室温条件下至少在一周内可以维持活性。
什么是 LCR 及推荐使用哪种酶进行 LCR?	LCR (Ligase chain reaction) 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 <i>Taq</i> DNA 连接酶。
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 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 <i>Taq</i> DNA 连接酶。
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℃) 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 T <sub>m</sub> 上下 2℃ 范围内 (T <sub>m</sub> 值需根据所使用的缓冲液条件计算)。
热稳定性 DNA 连接酶如 <i>Taq</i> DNA 连接酶是否可以连接粘性末端?	<i>Taq</i> DNA 连接酶可以连接具有较多碱基重叠的粘性末端, 如噬菌体 λDNA 的 12 bp 粘性末端。由于 II 型限制性内切酶产生的典型 4 bp 突出末端不是 <i>Taq</i> DNA 连接酶的适配底物, 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 <i>Taq</i> DNA 连接酶。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。