

Version: AK 4.0 (2023.09.12修订)

Spark DNA Quick Ligation Kit

(1000 U/μL)

目录号: AK0901

01/产品组分

序号	组分	AK0901-A	AK0901-B
		20 rxn	60 rxn
1	Spark T4 DNA Ligase	20 μL	60 μL
2	2×Quick Ligation Buffer	100 μL	300 μL

02/保存条件

本试剂盒于-20°C保存。

03/产品概述

本试剂盒可在室温、10 min 条件下, 迅速完成 DNA 片段粘性末端或平末端的连接反应。连接产物可直接用于转化。该试剂盒可用于 DNA 片段克隆、文库构建、TA 克隆、Linker 连接等。

04/注意事项

- ◇ 转化前不要热灭活 Spark T4 DNA Ligase, 否则将降低转化效率。
- ◇ DNA 片段体积大于 4 μL 的, 可适当增加 2×Quick Ligation Buffer 的量, 总反应体积相应可以增至 20 μL。
- ◇ 由于 Spark 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。

05/操作步骤

1. 以10 μL反应体系为例:

Components	Volume
2×Quick Ligation Buffer	5 μL
Vector DNA (30-60 ng)	X μL
Insert DNA (载体摩尔数量的3倍量, 插入片段和载体摩尔比为3:1)	Y μL
Spark T4 DNA Ligase (1000 U/μL)	1 μL
去离子水	To 10 μL

▲连接反应时, 推荐插入片段:载体的摩尔比为3:1 - 10:1,可按照如下公式计算插入片段所需的量:

$$\frac{\text{载体}(\text{ng}) \times \text{插入片段}(\text{kb})}{\text{载体}(\text{kb})} \times \text{摩尔比} \left(\frac{\text{插入片段}}{\text{载体}} \right) = \text{插入片段}(\text{ng})$$

▲一般最后加入Spark T4 DNA Ligase, 充分混匀后可瞬时离心收集液体至管底。

▲载体和插入片段的添加量可根据实际情况进行调整。

2. 室温连接 10 min (可在 PCR 仪中完成)。

▲推荐室温连接5-10 min, >3 kb的长片段连接时可延长时至30 min。不推荐超过30 min, 时间过长可能降低转化子数量。

3. 冰上冷却后直接转化或贮存于-20°C。

▲若贮存于-20°C, 避免反复冻融, 转化前应置于冰上重新溶解, 充分混匀后进行转化。

06/相关产品

AJ0101 Spark 2000 DNA Marker

AJ0205 Agarose

AJ0208 Spark GoldView

AF0102 2×Spark Taq PCR Master Mix (with dye)

AF0802 2×SparkHiFi Max Master Mix (with dye)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

