

RapiLigation Mix

目 录 号: RT407

储存条件: -20°C可保存1年

浓 度: 0.6 U/ μ l

来 源: 重组大肠杆菌

组成	RT407-01	RT407-02
RapiLigation Mix (2 \times)	100 μ l	3 \times 100 μ l
ddH ₂ O	1 ml	5 ml

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介

本产品是一种新型高效的T4 DNA连接酶预混液，RapiLigation Mix中包含基本的反应缓冲液、连接增强剂以及独特的酶保护剂和稳定剂，浓度为2×。具有高效快速、灵敏广泛、操作便捷等优点，可大大缩短连接时间、提高PCR产物的连接和克隆效率。

产品组成

- T4 DNA连接酶 0.6 U/μl
- Tris-HCl (pH8.0) 100 mM
- MgCl₂ 20 mM
- DTT 20 mM
- ATP 2 mM
- 10%PEG4000等其它稳定剂和增强剂

适用范围

平末端的连接：平末端酶切出的载体与高保真聚合酶扩增得到的PCR产物间的连接

粘末端的连接：粘末端酶切出的载体与基因片段间的连接

T载体的连接：T载体与Taq等聚合酶扩增得到的带3' A末端片段间的连接

使用说明

本产品使用方便快捷，使用时只需取适量 RapiLigation Mix溶液，加入制备好的载体和基因片段，并加入ddH₂O补足体积，使RapiLigation Mix溶液的浓度为1×即可，室温(22°C)进行反应，然后转化感受态。

使用示例

1. 建立反应体系

1) 按照下表的内容在离心管中加入各种成分。

组成成分	体积
RapiLigation Mix(2×)	5 μl
Vector(50 ng/μl)	1 μl
目的PCR片段	X μl
ddH ₂ O	补足至10.0 μl

2) 轻轻弹动离心管以混匀内容物，短暂离心3-5 sec。将混合反应液置于室温(22°C)反应5 min。反应结束后，将离心管置于冰上，进行后续的转化反应。

- 注意：1) 如果插入片段长度小于1 kb，反应时间可以采用5 min。
- 2) 如果插入片段长度为1-2 kb，反应时间可以采用5-10 min。
- 3) 如果插入片段长度为2-3 kb，反应时间可以采用10-20 min，更长片段连接可采用30 min至过夜。

2. 转化

取部分连接产物加到50-100 μl TOP10或DH5 α 感受态细胞中，轻弹混匀，冰浴30 min。将离心管置于42 $^{\circ}\text{C}$ 水浴90 sec，取出管后立即置于冰浴中放置2-3 min，期间不要摇动离心管。向离心管中加入350 μl 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的SOC或LB(不含抗生素)培养基，180 rpm、37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养45-60 min。吸取200 μl 或适量进行涂板，37 $^{\circ}\text{C}$ 培养12-16 h。

3. 鉴定

进行菌落PCR检测或测序鉴定。