

HiFi Taq DNA Ligase

REF: EG24203S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
HiFi Taq DNA Ligase	50 rxns
10× HiFi Taq DNA Ligase Buffer	500 µl

产品简介

HiFi Taq DNA Ligase 是一种突变型的 Taq DNA 连接酶，较野生型具有较高的连接效率及高保真性，同时维持了野生型的基本功能，是一种耐高温连接酶，在 37~75°C 范围内均具有活性。Taq DNA 连接酶以 NAD⁺ 为辅酶因子催化与同一互补靶 DNA 链杂交的两条相邻寡核苷酸链的 5'-磷酸和 3'-羟基之间形成磷酸二酯键，只对 DNA 切刻具有显著的活性。

质量控制

非特异性内切酶活性检测

将 1 µl 的本品与超螺旋质粒 DNA 在 37°C 温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒无变化。

DNase 残留检测

将 1 µl 本品与双链 DNA 底物在 37°C 温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

RNase 残留检测

将 1 µl 的本品与 500 ng RNA 在 37°C 温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测超过 90% 的 RNA 仍保持完整。

宿主 DNA 残留检测

本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 10 拷贝 /µl。

推荐反应体系

组分	体积
DNA	up to 1 µg
10× HiFi Taq DNA Ligase Buffer	5 µl
HiFi Taq DNA Ligase	1 µl
ddH ₂ O	To 50 µl

推荐反应条件

45~65°C 反应 15 min。

注意事项

1. 反应条件: Taq 高保真 DNA 连接酶的反应温度范围为 37~75°C。对于某组给定的探针，最佳连接温度通常与探针退火区域 T_m 值相差 5°C 以内。同时在实际应用中，需要根据经验实现活性和保真度的最佳平衡。

2. 对于经典的 LDR 检测，反应时间通常在 10~60 min 之间，其中 15 min 反应时间适用于多数应用。对于需要进行变性 / 退火 / 连接循环的检测，我们建议在 95°C 条件下变性 30 s~2 min，然后以探针组优化后的连接温度退火 / 连接 1~5 min。

3. 10× HiFi Taq DNA Ligase Buffer 中含有 NAD⁺ 作为辅因子，将其分装后储存在 -80°C 条件下，以便进一步延长 NAD⁺ 辅因子的半衰期。反应 Buffer 从低温到室温解冻后，溶液中可能出现白色沉淀，可以用移液器吹打 20~30 次或者涡旋震荡溶解沉淀后再使用。若反应 Buffer 变棕色可以继续使用。

4. 在通过凝胶电泳观察连接反应时，建议使用蛋白酶 K 进行产物处理后再进行电泳，以避免出现凝胶迁移。