

Hieff[®] Novel T4 DNA Ligase (400 U/ μ L)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
	10298ES40	40000 U
Hieff [®] Novel T4 DNA Ligase (400 U/ μ L)	10298ES42	400 KU
	10298ES08	5 mL

产品描述

Hieff[®] Novel T4 DNA Ligase 是一款可用于 NGS 建库过程中 DNA 片段和接头连接的单酶产品，该产品已经过高通量测序验证，质量优异。本酶具有高效的连接能力，兼容各类样本，对于复杂结构核酸片段的连接更显优势，比如华大平台的 Bubble 接头，均可得到优异的测序质量。

产品组分

组分编号	组分名称	规格		
		10298ES40	10298ES42	10298ES08
10298-A	Hieff [®] Novel T4 DNA Ligase (400 U/ μ L)	100 μ L	1 mL	5 mL
10298-B	10 \times T4 DNA Ligase Buffer	250 μ L	2 \times 1.25 mL	10 \times 1.25 mL

运输和保存方法

冰袋运输。-20 $^{\circ}$ C 保存，有效期 2 年。

单位定义

在 20 μ L 的连接反应体系中，6 μ g 的 λ DNA-Hind III 分解物在 16 $^{\circ}$ C 下反应 30 min 时，催化 50% 以上的 DNA 片段发生连接所需要的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

注意事项

- 1) Buffer 在融解时，如果出现少量沉淀属正常现象，请颠倒混匀后使用。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3) 本产品仅作科研用途！

使用方法

1. 目前主流的合并法 DNA 建库试剂盒，其末端修复和加 A 处理后一般不纯化，直接进行接头连接。本试剂盒可与主流的商业化末端修复加 A 体系兼容，进行接头连接。反应体系请参考如下配制，涡旋分离后置于 20°C，反应 15 min 即可。

表 1 Adapter Ligation 体系

名称	体积 (μL)
dA-tailed DNA	60
10×T4 DNA Ligase Buffer	10
50% PEG 6000	10*
DNA Adapter	X**
Hieff® Novel T4 DNA Ligase	1-5***
ddH ₂ O	To 100

【注】：*试剂盒内未提供 50% PEG 6000，需自行准备。

**接头用量参考表 2。

***Hieff® Novel T4 DNA Ligase 用量可根据需要添加 1-5 μL。

2. Adapter 的质量和浓度直接影响连接效率及文库产量。Adapter 用量过高可能会产生较多 Adapter Dimer；用量较低可能会影响连接效率及文库产量。表 2 列举了使用本试剂盒，不同 Input DNA 量推荐的 Adapter 使用量。

表 2 500 pg-1 μg Input DNA 推荐的 Adapter 使用浓度

Input DNA	Adapter : Input DNA 摩尔比	Input DNA	Adapter : Input DNA 摩尔比
1 μg	10:1	50 ng	100:1
500 ng	20:1	25 ng	200:1
250 ng	40:1	1 ng	200:1
100 ng	100:1	500 pg	400:1

【注】：Input DNA 摩尔数 (pmol) ≈ Input DNA 质量(ng) / [0.66 × Input DNA 平均长度 (bp)]。

【接头添加计算举例】：当 Input DNA 为 100 ng，Input DNA 长度为 300 bp 时，接头应该添加多少？

第一步，计算 Input DNA 摩尔数。公式：Input DNA 摩尔数 (pmol) ≈ Input DNA 质量(ng) / [0.66 × Input DNA 平均长度 (bp)]；

$$\text{Input DNA 摩尔数 (pmol)} = 100 \div (0.66 \times 300) = 0.5 \text{ pmol};$$

第二步，计算接头添加摩尔数。根据表 2 查询接头添加比例；

根据表 2，查得 Input DNA 100 ng 时接头添加比例 100:1，则接头添加摩尔数 = 100 × 0.5 pmol = 50 pmol；

第三步，计算接头添加体积。接头浓度 = 15 μmol/L（如使用其他接头，浓度需要依据其他接头浓度参数）；

$$\text{接头添加体积} = \text{接头添加摩尔数 (50 pmol)} \div \text{接头浓度 (15 μmol/L)} = 3.34 \text{ μL (注: 15 μmol/L} = 15 \text{ pmol/μL)}$$

综上，接头可添加 3.4 μL。（注：接头最大加入体积不超过 5 μL）