

## Hieff<sup>®</sup> Novel T4 DNA Ligase (4000U/ $\mu$ L)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
	14951ES03	1 mL
Hieff <sup>®</sup> Novel T4 DNA Ligase (4000 U/ $\mu$ L)	14951ES10	10 mL
	14951ES60	100 mL

### 产品描述

Hieff<sup>®</sup> 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		
		14951ES03	14951ES10	14951ES60
14951	Hieff <sup>®</sup> Novel T4 DNA Ligase (4000 U/ $\mu$ L)	1 mL	10 mL	100 mL

### 运输和保存方法

冰袋运输。-20°C保存，有效期2年。

### 单位定义

在 20  $\mu$ L 的连接反应体系中，6  $\mu$ g 的  $\lambda$ DNA-Hind III 分解物在 16°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 (Cat#15821)	10
50% PEG 6000	10*
DNA Adapter	X**
Hieff® Novel T4 DNA Ligase (4000 U/μL)	0.1-0.5***
ddH <sub>2</sub> 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 0.1-0.5 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）