



中华人民共和国国家标准

GB/T 34776—2017

T4 DNA 连接酶 酶活及杂质检测方法

T4 DNA ligase—Detection methods of activity and impurities of enzyme

2017-11-01 发布

2018-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国工具酶工作组(SAC/SWG 11)归口。

本标准起草单位:中国测试技术研究院、深圳华因康基因科技有限公司、福建华灿制药有限公司。

本标准主要起草人:周李华、李怀平、盛司潼、孙登峰、谭辉彪、黄发灿、金虹、马丽侠、叶德萍、李花、王智、沈兴中、谭和平。

T4 DNA 连接酶 酶活及杂质检测方法

1 范围

本标准规定了 T4 DNA 连接酶的活力、杂质的检测方法。
本标准适用于作为分子生物学研究用的 T4 DNA 连接酶。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

YY/T 0087 电泳装置

YY/T 0657 医用离心机

JJG 646 移液器检定规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

DNA 连接酶 DNA ligase

一种封闭 DNA 链上的缺口酶,借助 ATP 或 NAD 水解提供的能量催化相邻的核苷酸分子间 3'-羟基和 5'-磷酸基形成磷酸二酯键。

注: DNA 连接酶催化底物可以是 DNA 或 RNA。依据酶的类型不同,反应中产生高能中间产物的辅助因子可以是 ATP 或 NAD⁺。

3.2

T4 DNA 连接酶 T4 DNA ligase

一种 T4 噬菌体基因 30 的编码产物,以 ATP 作为辅助因子,催化双链 DNA 或 RNA 的 5'-磷酸末端和 3'-羟基末端形成磷酸二酯键。

注: 带有 His-Tag,分子质量约为 70 ku,来源于转化有 T4 DNA 连接酶表达载体的 *E.Coli* 菌株。主要作用是催化 DNA 末端之间的连接,修复双链核酸中的单链切口。

3.3

酶活力单位 unit activity

在 20 μ L 1 \times T4 DNA 连接酶反应缓冲液中,16 $^{\circ}$ C 反应条件下,30 min 能使 50% 的经 Hind III 消化的 λ DNA 片段 [5'端浓度为 0.12 μ mol/L(300 μ g/mL)] 连接所需的酶量即为 1 活力单位。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

PCR 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction)。

SDS-PAGE 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel