



Just fine Molecular Biology

T4 DNA Ligase

Beschreibung Die T4 DNA Ligase katalysiert die ATP-abhängige Ligation von Phosphodiesterbindungen zwischen dem 5' Phosphatende und dem 3' Hydroxylende in duplex DNA/ RNA. Die Ligase schließt sowohl glatte als auch überhängende Restriktionsenden und repariert Einzelstrangbrüche (sog. Nicks) in duplex DNA, RNA oder DNA/ RNA Hybridmolekülen.

Quelle Die Ligase wird rekombinant in E. coli exprimiert.

- Anwendung**
- Klonierung von Restriktionsfragmenten
 - Ligieren von Adaptern und Linkern an an blunt-end DNA
 - schließt Einzelstrangbrüche in duplex DNA, RNA oder DNA/ RNA Hybridmolekülen
 - Gensynthese

Das Volumen der Ligationsreaktion, die Konzentration der DNA, die Enzymmenge, die Temperatur und die Inkubationszeit hängen von der Applikation ab.

Ligation überhängender Enden Für die meisten Reaktionen reicht eine Inkubation von 30 Minuten bei 20°C aus. Inkubationen können auch bei 16°C für 4 – 16 Stunden durchgeführt werden.

Ligationen glatter Enden und von Fragmenten mit 'single base pair' Überhang benötigen eine größere Enzymmenge. Außerdem kann die Reaktion durch Zugabe von PEG 4000 (empfohlene Endkonzentration beträgt 5% W/ V) oder durch die Reduzierung der rATP Konzentration verbessert werden.

Konzentration 100000 Einheiten/ml

Lagerungspuffer 10 mM Tris-HCl (pH 7,4), 50 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% Glycerin

Reaktionspuffer (10x) 500 mM Tris-HCl (pH 7,8), 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT und 10 mM ATP.

Einheitendefinition Eine Einheit ist definiert als die Menge Enzym, die notwendig ist um 50% der Fragmente einer HindIII restringierten Lambda-DNA in 30 Minuten bei 16°C zu ligieren, wobei die Konzentration der 5' Enden 0,12µM beträgt. Eine 'Cohesive End Ligation Unit' entspricht 0,015 Weiss Units. Eine Weiss Unit entspricht 67 'Cohesive End Ligation Units'.

Qualitätskontrolle Das Enzym wurde in einem 'Blau/ Weiß Klonierungsassay' auf die Abwesenheit von Endo- und Exonuklease- Aktivität getestet

Lagerung - 20 °C

Inaktivierung 10 Minuten bei 65°C

<u>Kat.Nr.</u>	<u>Verp.-Größe</u>	<u>Preis, Euro</u>
-----------------------	---------------------------	---------------------------

402002	2000 Einheiten	
402010	10000 Einheiten	

Bioron GmbH

**Contact: Phone: +49-(0)-621- 5720 915 Fax:+49-(0)-621-5720 916
E-Mail: info@bioron.net www.bioron.net**