

Instrukcja

T4 ligaza DNA

Enzym umożliwiający łączenie pęknięć w pojedynczych łańcuchach dsDNA. Stężenie 1 U/ μ l.

numer katalogowy	wielkość
1004-200	200 U
1004-1000	5 x 200 U

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Opis

T4 ligaza DNA jest oczyszczana ze szczepu *E.coli* niosącego plazmid z wklonowanym genem 30 bakteriofaga T4.

Enzym katalizuje tworzenie wiązania fosfodiesterowego pomiędzy resztą fosforanową końca 5' i hydroksylową końca 3' sąsiadujących fragmentów dwuniciowego DNA lub RNA, zakończonych tępo lub lepko.

T4 ligaza DNA do aktywności wymaga ATP jako kofaktora. Obecność NaCl i KCl w stężeniu powyżej 200 mM powoduje hamowanie aktywności T4 ligazy DNA.

Zastosowanie

- szybka ligacja fragmentów DNA (lepkich i tępych końców).
- odbudowa pęknięć jednej nici dwuniciowego DNA, RNA bądź DNA-RNA. Nie wykazuje aktywności wobec jednoniciowych kwasów nukleinowych.

Skład

	1004-200	1004-1000	przechowywanie
T4 ligaza DNA	200 U (1 U/μl)	5 x 200 U (1 U/μl)	-20 °C
bufor do przechowywania: 20 mM Tris-HCl, pH 7,5, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mM EDTA, 50% glicerol (v/v)			
bufor do ligazy	1 ml	2 x 1 ml	-20 °C
10x bufor do ligacji: mieszanina buforów, soli, stabilizatorów i ATP			

Proponowany protokół ligacji

1. Całkowicie rozmrozić i wymieszać wszystkie komponenty niezbędne do nastawienia reakcji.

	objętość reakcji
składnik	20 μ l
bufor do ligazy	2 μ l
T4 ligaza DNA	1 μ l
Próbka (insert + wektor)	1-17 μ l
Woda jałowa	uzupełnić do 20 μ l

2. Zostawić na 15 min w temp. pokojowej..

Uwagi:

1. T4 ligaza DNA do aktywności wymaga ATP jako kofaktora.
2. Obecność NaCl i KCl w stężeniu powyżej 200 mM powoduje hamowanie aktywności T4 ligazy DNA.



A&A BIOTECHNOLOGY

innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2024-1

