



Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

T4 ДНК лигаза

Кат. номер E-2010, E-2050

Описание

Настоящий продукт является рекомбинантным ферментом, ДНК лигазой бактериофага T4. Фермент имеет молекулярную массу 55,5 кДа. T4 ДНК лигаза сшивает как «липкие» так и тупые концы с образованием фосфодиэфирной связи между соседними 5'-фосфатными и 3'-гидроксильными концами в двухцепочечных фрагментах ДНК или РНК. Фермент так же восстанавливает одноцепочечные разрывы в двухцепочечной ДНК. Для активности ферменту необходим кофермент АТФ. Оптимальную активность фермент проявляет при температуре 16°C.

Инактивации фермента происходит при 65°C в течение 10 минут.

Область применения

Клонирование рестрикционных фрагментов.
Соединение фрагментов ДНК с тупыми концами.

Источник

T4 ДНК лигаза выделена из штамма *E.coli*, содержащего плазмиду с клонированным геном фермента бактериофага T4.

Единицы активности

Одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для сшивки 50% ДНК лямбда, гидролизованной HindIII (300 нг/мкл), в общем реакционном объеме 20 мкл за 30 минут при 16°C в стандартном реакционном буфере.

Концентрация фермента и фасовки: 200 е.а./мкл.

Каталожный номер	Название	Количество	Объем
E-2010	T4 ДНК лигаза	10 000 е. а.	50 мкл
E-2050	T4 ДНК лигаза	50 000 е. а.	250 мкл

Буфер хранения

Фермент находится в растворе следующего состава: 10 мМ Трис-НСl (рН 7,5 при 25°C), 50 мМ КСl, 1 мМ DTT, 0,1 мМ EDTA, 50% глицерин.

Контроль качества

Каждая партия фермента тестируется на специфическую активность фермента, электрофоретическую чистоту в SDS-ПААГ, отсутствие неспецифической нуклеазной активности.

Стандартный 1x буфер для проведения реакции: 50 мМ Tris-НСl (рН 7,5 при 25°C), 10 мМ MgCl₂, 1 мМ АТФ, 10 мМ DTT (500 мкл 10x буфера поставляется вместе с ферментом).

Типичные условия для проведения реакции

Для клонирования фрагментов ДНК смешайте в пробирке указанные компоненты:

- 2 мкл 10x стандартного реакционного буфера;
- 40-50 нг вектора (размером 4-5 т.п.н.);
- 30-40 нг вставки (размером 800-1000 п.н.);
- до 18 мкл воды, очищенной от нуклеаз;
- 2 мкл (400 е. а.) Т4 ДНК лигазы.

Инкубируйте реакционную смесь при 16°C в течение ночи.

Условия хранения и транспортировки

Хранить при температуре -20°C.

Допускается транспортирование при температуре не выше +8°C в течение трех суток.