

E.coli DNA Ligase

Code No. 2161

包装量: 1,000 U
浓度: 60 U/μl

附带Buffer:

10X *E.coli* DNA Ligase Buffer 100 μl
10X BSA (0.05%) * 100 μl

* BSA在-20℃下易产生沉淀, 应尽量避免多次反复冻融。短期使用请在4℃下保存。产生稍许沉淀不影响反应效果。

制品说明

本酶催化相邻DNA链的5' -P末端和3' -OH末端以磷酸二酯键结合的反应, 与T4 DNA Ligase作用相同。分子量为77,000, 最适反应pH为7.5-8.0 (Tris-HCl buffer)。反应需NAD作辅酶。与T4 DNA Ligase可连接粘性末端和平末端相比, 本酶只能催化突出末端DNA之间的连接, 但如果在PEG及高浓度一价阳离子存在的条件下, 也能连接平滑末端的DNA³⁾。与T4 DNA Ligase能将DNA的5' -P末端与RNA的3' -OH以及RNA的5' -P末端与DNA的3' -OH连接不同, 本酶不能催化DNA与RNA以及RNA之间的连接⁴⁾。

贮存溶液

potassium phosphate (pH7.5)	10 mM
KCl	50 mM
EDTA	1 mM
DTT	1 mM
Glycerol	50%

保存: -20℃

起源

Escherichia coli UT481 carrying the plasmid encoding the ligase^{1,2)}。

活性定义

在20 μl的连接反应体系中, 6 μg的λ DNA-Hind III在16℃下反应30分钟时, 有90%以上的DNA片段被连接所需要的酶量定义为一个活性单位 (U)。

活性测定反应液组成

Tris-HCl, pH8.0	30 mM
MgCl ₂	4 mM
(NH ₄) ₂ SO ₄	10 mM
EDTA	1.2 mM
NAD	100 μM
bovine serum albumin	0.005%
λ DNA-Hind III digest	6 μg/20 μl

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc.网站中下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途

Okayama-Berg 法⁵⁾克隆 cDNA, 实验操作中酶的用量约为 50 U。

使用注意

本酶由大肠杆菌克隆体精制而成, 杂质很少, 是纯度很高的制品。因此, 即便是高浓度制品, 大量使用也完全没有问题。

使用例

Tris-HCl, pH8.0	30 mM
MgCl ₂	4 mM
(NH ₄) ₂ SO ₄	10 mM
EDTA	1.2 mM
NAD	100 μM
bovine serum albumin	0.005%
DNA	1 μg
<i>E.coli</i> DNA Ligase	60 U
灭菌水	up to 20 μl



16℃温育 1 小时或过夜

参考文献:

- 1) Isino Y, Shinagawa H, Makino K, Tsunasawa S, Sakiyama F, and Nakata A. *Molec Gen Genet.* (1986) **204**: 1-7.
- 2) Panasenko S M, Alazard R J, and Lehman I R. *J Biol Chem.* (1987) **253**: 4590-4592.
- 3) Hayashi K, Nakazawa M, Ishizaki Y, Hiraoka N, and Obayashi A. *Nucleic Acids Res.* (1985) **13**: 7979-7992.
- 4) Engler M J and Richardson C C. *in The Enzyme.* (1982) **15**: 3-29.
- 5) Okayama H and Berg P. *Mol Cell Biol.* (1982) **2**: 161-170.
- 6) Gubler U and Hoffman B J. *Gene.* (1983) **25**: 263-269.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品, 或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

v202212DA