

T4 DNA リガーゼ

02-050 20,000 U, 02-050-5 5 x 20,000U

バクテリオファージ T4 由来 DNA Ligase は隣接した 5' -P 末端と 3' -OH 末端のホスホジエステル結合による、二本鎖 DNA どちらの連結反応を触媒する酵素である(1)。

本製品はバクテリオファージ T4 由来 DNA ligase 遺伝子を大腸菌で大量に発現させ、高度に精製したもので、天然の酵素と同じく分子量 55.3 kDa である。

用途

- ・ インサート DNA とベクター DNA との連結
- ・ DNA 断片とリンカーあるいはアダプター DNA との連結

製品の性質

活性の定義: 本品 1unit は反応混合液 20 μ l 中 6 μ g の λ /Hind III フラグメントを 16 $^{\circ}$ C、30 分間で 90%以上結合させる酵素活性とする。

推奨反応条件: 突出末端のライゲーションには 20 u l の反応系において、400 ユニット(1 u l)の酵素溶液の使用をお勧めいたします。16 $^{\circ}$ C がベストですが、室温(20~25 $^{\circ}$ C)、10 min でもライゲーションは可能です。平滑末端のライゲーションには、この条件で 2 時間の反応が必要です。

純度: SDS-PAGE (CBB 染色) で 95%以上が T4 DNA Ligase タンパク質。
エンドヌクレアーゼおよびエキソヌクレアーゼのコンタミネーションが検出されないことを確認している。

濃度: 400 U/ μ l

性状: 10 mM Tris-HCl (pH7.6), 50 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50 % Glycerol

保存: -20 $^{\circ}$ C

添付: 10 x ATP 含有 Reaction Buffer (T4-Lig) (02-T4b 1.25ml)
(500 mM Tris-HCl (pH 7.6), 100 mM MgCl₂, 10 mM ATP, 100 mM DTT)

データリンク: UniProtKB/Swiss-Prot [P00970](#) (DNLI_BPT4)

文献:

1. Weiss B et al (1968) "Enzymatic breakage and joining of deoxyribonucleic acid." J. Biol. Chem.243: 4543-4555 PMID: [4879167](#)

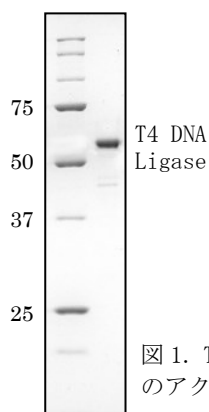


図1. T4 DNA Ligase タンパク質のアクリルアミドゲル電気泳動

0 10 20 30 (min)

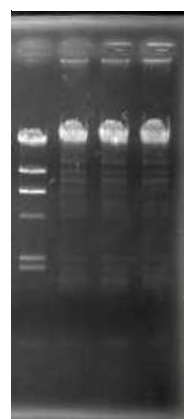


図2. DNA ligation 活性

λ DNA-Hind III フラグメントのライゲーション
T4 DNA Ligase : 400 unit
16 $^{\circ}$ C - 10, 20, 30 分