

Link do produktu: <http://www.novazym.sklep.pl/t4-dna-ligaza-2u-weissaul-500u-p-2.html>

T4 DNA Ligaza, 2u Weissa/ul, 500u

Dostępność

Dostępny

Numer katalogowy

LA1000-05

Opis produktu

Ligaza faga T4

Kowalencyjnie łączy komplementarne do siebie fragmenty DNA oraz katalizuje reakcję utworzenia wiązania fosfodiesterowego pomiędzy fragmentami DNA o tępych końcach. Enzym ma zdolność odbudowywania nicków (nicks) w dsDNA, RNA lub hybrydach DNA/RNA.

Zalecane warunki reakcji: objętość mieszaniny reakcyjnej, stężenie enzymu, temperatura i czas inkubacji wymagają empirycznego doboru w zależności od konkretnego przypadku. Bardzo często (zwłaszcza w przypadku ligacji lepkich końców) reakcje ligacji można prowadzić w temperaturze pokojowej w ciągu 1 godziny. W przypadku ligacji tępych końców zalecamy przeprowadzenie reakcji w niższej temperaturze 16- 14 0C w okresie całonocnej inkubacji.

W przypadku ligacji tępych końców zalecane jest również przeprowadzenie prób w gradiencie temperatury rozpoczynając od temperatury pokojowej kończąc na 12C w czasie reakcji 10-12 godz. Wykorzystanie PEG 4000 (PEG 4000) w końcowym stężeniu 5-10% może znacznie poprawić efektywność ligacji tępych końców.

W celu polepszenia rezultatów transformacji wskazane jest inaktywować ligazę inkubując enzym 10-15min w temperaturze 65C. Wyjściowa ilość transformantów może zwiększyć się nawet 100x.

Pomiar aktywności Ligazy jest trudny i może być wyrażony na kilka sposobów. Określając aktywność naszego enzymu używamy jednostek Weissa.

Definicja jednostki: Jedna jednostka Weissa to ilość enzymu która katalizuje wymianę 1nmol 32P zpirofosforanu w [?,?~ 32P] ATP w czasie 20min w temp. 20C 0,015 jednostki Waissa T4 Ligazy DNA liguje 50% fragmentów bakteriofaga po restrykcji endonukleazą Hind III.

UWAGA! Ograniczenia w zastosowaniu: Te produkty zostały zaprojektowane i wykonane wyłącznie do celów badawczych. Nie został przetestowany w kierunku zastosowania do celów diagnostycznych i do bezpośredniej produkcji leków oraz do celów związanych z produkcją leków.