

# DNA Ligase

(*Escherichia coli*)

## DNA Ligase (*Escherichia coli*)

Artikel Nr.	Größe
E1065-01	500 Einheiten
E1065-02	2 500 Einheiten

**Definition der Einheit:** Eine Einheit wird als die Menge des Enzyms definiert, das erforderlich ist, um 50 % der Hind III Fragmente aus Lamda-Phagen-DNA zu ligieren. Die Inkubation wird bei 16°C durchgeführt in Reaktionsansätzen mit einem Volumen von 20 µl mit einer Konzentration freier DNA-Enden von 0,02 µM (50 µg/ml).

**Bemerkung:**  
67 Ligationseinheiten (Ligationseinheit, bezogen auf kohäsive Enden) entsprechen einer Weiss-Einheit.

**Lagerbedingungen:**  
Lagerung bei -20°C

**DNA Ligase (*E.coli*) katalysiert die Bildung einer Phosphodiester-Bindung zwischen benachbarten 5'-Phosphat- und 3'-Hydroxylgruppen in doppelsträngiger DNA.**

### Beschreibung:

- Katalysiert die Bildung einer Phosphodiester-Bindung zwischen Duplex-DNA-Bruchstücken mit kohäsiven Enden.
- Die Kondensation der 5'-Phosphoryl Gruppe mit einer angrenzenden 3'-Hydroxyl Gruppe ist gekoppelt mit der Hydrolyse von NAD<sup>+</sup>.
- Geeignet für das Klonieren von cDNA voller Länge mit hohem Wirkungsgrad (1, 2).

### Reaktionspuffer (Reaction buffer):

30 mM Tris-HCl (pH 8.0 bei 22°C), 1 mM Dithiothreitol, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 26 µM NAD<sup>+</sup>, 50 µg/ml Rinderserum-Albumin.

**Die optimale Ligationstemperatur beträgt 16°C.**

### Lagerungspuffer (Storage Buffer):

10 mM Tris-HCl (pH 7.4 bei 22°C), 50 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 10 mM Ammoniumsulfat, 1 mM Dithiothreitol und 50% [v/v] Glycerin.

### Reaktionsbedingungen für die Ligation (Qualitätskontrolle):

30 mM Tris-HCl (pH 8.0 bei 22°C), 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.2 mM EDTA, 1 mM Dithiothreitol, 0.026 mM NAD<sup>+</sup>, 50 µg/ml Rinderserum-Albumin und zu ligierende DNA (hier: Hind III Fragmente von Lambda-DNA). Inkubation bei 16°C für 30 Minuten.

### Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease- und Exonuklease-Aktivitäten geprüft. Weiterhin wird eine funktionelle Prüfung im Rahmen einer Ligationsreaktion durchgeführt.

### Literatur:

1. Okayama, H. und Berg, P. (1982) *Mol. Cell. Biol.* 2, 161-170.
2. Gubler, U und Hoffman, B.J. (1983) *Gene* 25, 263-269.