

T4 DNA Ligase

Code No. 2011A **Size:** **25,000 U**
Conc.: **350 U/ μ l**

Supplied Reagents:
10X T4 DNA Ligase Buffer **1 ml**

Description:

T4 DNA Ligase catalyzes the formation of phosphodiester bonds between 3'-OH termini and 5'-P termini to join DNA strands. The molecular weight of T4 DNA Ligase is ~62,000 Da. For ligation, the optimal reaction pH is 7.6, and T4 DNA Ligase requires Mg^{2+} and ATP as cofactors. This enzyme can ligate molecules with either cohesive ends or blunt ends.

Storage Buffer:

10 mM	Tris-HCl (pH 7.5)
50 mM	KCl
1 mM	DTT
0.1 mM	EDTA
50%	Glycerol

Storage: -20°C

Source:

Escherichia coli carrying the plasmid that enables highly expression of T4 DNA ligase gene^{2), 3)}

Unit definition:

One unit is the amount of enzyme that ligates more than 90% of 6 μ g of λ DNA-*Hind* III fragments in a 20 μ l mixture in 30 minutes at 16°C. One unit of this enzyme corresponds to 0.008 Weiss units by the ATP-PPi exchange reaction¹⁾ in 66 mM Tris-HCl, pH 7.6 that contains 6.6 mM $MgCl_2$, 10 mM DTT, 66 μ M ATP, and 3.3 μ M [³²P]- $Na_4P_2O_7$.

Reaction mixture for unit definition:

66 mM	Tris-HCl (pH 7.6)
6.6 mM	$MgCl_2$
10 mM	DTT
0.1 mM	ATP
6 μ g/20 μ l	λ DNA- <i>Hind</i> III fragments

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Applications:

- 1) Insertion of a DNA fragment into a vector
- 2) Linker or adaptor ligation to a DNA fragment

Note:

The reaction rate of ligation varies depending on the terminal sequence of the DNA molecule. In general, the order is as follows (fastest to slowest):

cohesive-end ligation:

Hind III > *Pst* I > *Eco*RI > *Bam*HI > *Sal*I⁴⁾

blunt-end ligation: *Hae* III > *Alu* I > *Hinc* II > *Sma* I

*Eco*RV > *Sca* I > *Pvu* II > *Nru* I⁴⁾

The ligation rate of *Hind* III end is 10 - 40 times faster than *Sal* I end, and *Hae* III end is 5 - 10 times faster than *Sma* I end.

Composition of Supplied Reagents (store at -20°C):

10X T4 DNA Ligase Buffer	
660 mM	Tris-HCl, pH 7.6
66 mM	$MgCl_2$
100 mM	DTT
1 mM	ATP

References:

- 1) Weiss B, Jacquemin-Sablon A, Live T R, Fareed G C, and Richardson C C. *J Biol Chem.* (1968) **243**: 4543-4555.
- 2) Wilson G G and Murray N E. *J Mol Biol.* (1979) **132**: 471-491.
- 3) Murray N E, Bruce S A, and Murray K. *J Mol Biol.* (1979) **132**: 493-505.
- 4) Hayashi K, Nakazawa M, Ishizaki Y, and Obayashi A. *Nucleic Acids Res.* (1985) **13**: 3261-3271.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

T4 DNA Ligase

Code No. 2011A 容量： 25,000 U
濃度： 350 U/ μ l

添付試薬：
10 × T4 DNA Ligase Buffer 1 ml

● 製品説明

本酵素は隣接した DNA 鎖の 5'-P 末端と 3'-OH 末端をホスホジエステル結合で連結する酵素である。分子量約 62,000、至適 pH は pH7.6 である。補酵素として ATP を要求し、反応の中間体として Enzyme-ATP complex が作られ、これが DNA に作用する。本酵素は突出末端どうしても、平滑末端どうしても連結できる。また、DNA と RNA、および RNA どうしもわずかに連結できる。

● 形状

10 mM	Tris-HCl, pH7.5
50 mM	KCl
0.1 mM	EDTA
1 mM	DTT
50%	グリセロール

● 保存 - 20°C

● 起源

Escherichia coli carrying the plasmid that enables highly expression of T4 DNA ligase gene^{2), 3)}

● 活性の定義

6 μ g/20 μ l の λ DNA-Hind III 分解物を 16°C で 30 分間に 90% 以上ライゲーションさせる酵素活性を 1 U とする。

なお、本酵素の 1 U は ATP-PPi 交換反応における 0.008 Weiss Unit に相当する。¹⁾

Weiss Unit 反応液組成： 66 mM Tris-HCl (pH7.6), 6.6 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 66 μ M ATP, 3.3 μ M [³²P]-Na₄P₂O₇.

● 活性測定用反応液組成

66 mM	Tris-HCl (pH7.6)
6.6 mM	MgCl ₂
10 mM	DTT
0.1 mM	ATP
6 μ g/20 μ l	λ DNA-Hind III 分解物

● 品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

● 用途

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

● 使用上の注意

ライゲーション反応は、末端塩基配列の違いにより、反応速度が異なる。一般に次のような傾向があり、Hind III による切断末端と Sal I のそれとでは約 10 ~ 40 倍の差がある。

突出末端： Hind III > Pst I > EcoRI > BamHI > Sal I⁴⁾

Blunt end ligation の反応速度も末端塩基配列により次のような傾向があり、Hae III による切断末端と Sma I のそれとでは約 5 ~ 10 倍の差がある。

平滑末端： Hae III > Alu I > Hinc II > Sma I
EcoRV > Sca I > Pvu II > Nru I⁴⁾

● 添付試薬組成 (保存： - 20°C)

10 × T4 DNA Ligase Buffer	
660 mM	Tris-HCl, pH7.6
66 mM	MgCl ₂
100 mM	DTT
1 mM	ATP

● 参考文献：

- 1) Weiss B, Jacquemin-Sablon A, Live T R, Fareed G C, and Richardson C C. *J Biol Chem.* (1968) **243**: 4543-4555.
- 2) Wilson G G and Murray N E. *J Mol Biol.* (1979) **132**: 471-491.
- 3) Murray N E, Bruce S A, and Murray K. *J Mol Biol.* (1979) **132**: 493-505.
- 4) Hayashi K, Nakazawa M, Ishizaki Y, and Obayashi A. *Nucleic Acids Res.* (1985) **13**: 3261-3271.

● 注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。