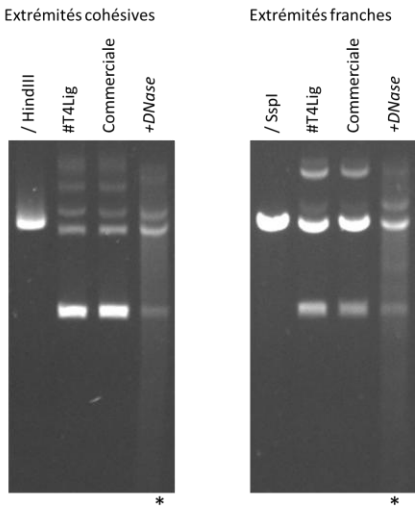
T4 DNA Ligase

#T4Lig, T4 DNA ligase **400U/µl** **20,000 U (cohesive end unit)**
(*Suffisant pour 50 réactions de ligation de 20µl)*

Enzyme utilisée pour la formation d'un lien phosphodiester entre une extrémité 5'phosphate et une extrémité 3'hydroxyl juxtaposées dans un duplex ADN ou ARN.
Elle est purifiée à partir de cellules *E. coli* exprimant un clone recombinant de la T4 DNA ligase. Elle rencontre différents standards de qualité préétablis: Pureté par SDS-PAGE, absence de DNase, capacité de lier des extrémités franches ou cohésives.

Absence de DNase

Évaluation de l'absence/présence de DNase par comparaison avec une T4 DNA ligase commerciale et une T4 DNA ligase présentant une contamination à la DNase.



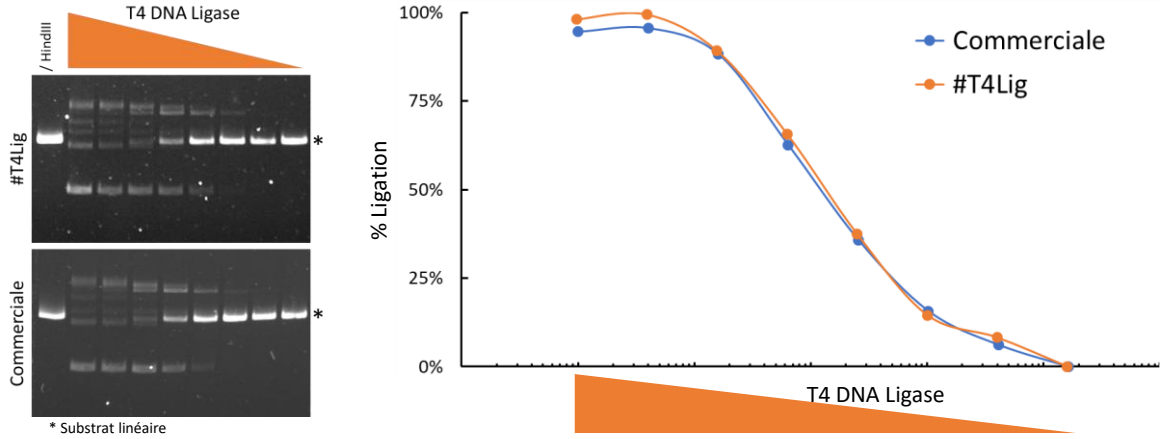
Absence de DNase. Migration sur gel d'agarose des produits de ligation (18h à 16°C) en utilisant différentes T4 DNA ligase sur un substrat présentant des extrémités cohésives ou franches.
*T4 DNA ligase présentant une contamination par la DNase.

Réaction:	*20 µl de réaction en suivant le protocole établi*
Substrat:	*100ng d'un plasmide (6000bp) linéarisé par HindIII (cohésives) ou par SspI (franches)*
Enzyme:	*100U (#T4Lig, commerciale et une ligase présentant de la DNase)*
Conditions de réaction:	*18h à 16°C*
Détermination de l'activité:	*Visualisation de traînées sous les produits de ligation*
	¼ de la réaction sur gel d'Agarose 0.75% en présence de 0.25X GelRed

T4 DNA Ligase

Activité

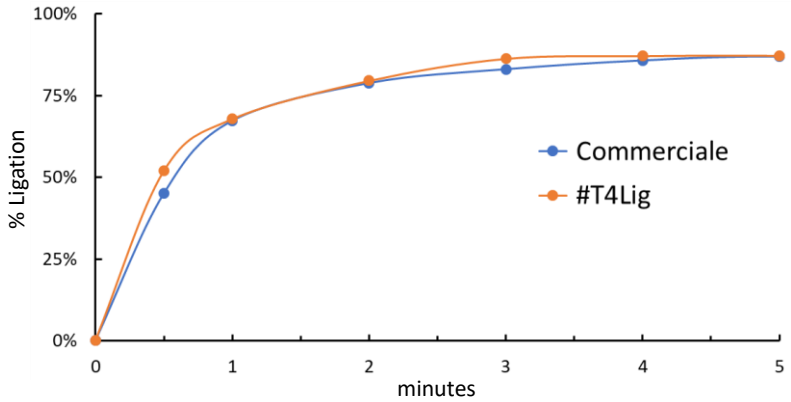
Détermination de l'activité de la T4 DNA ligase



Réaction:	*20 µl de réaction en suivant le protocole établi*
Substrat:	*100ng d'un plasmide (6000bp) linéarisé par HindIII (cohésives)*
Enzyme:	*Dilution des enzymes #T4Lig et T4 DNA ligase commerciale*
Conditions de réaction:	*30min à 22°C*
Détermination de l'activité:	*Quantification du pourcentage de produits non-linéaire sur gel d'agarose 0.75% en présence de 0.25X GelRed*

Efficacité

Détermination de la vitesse de ligation de la T4 DNA ligase



Réaction:	*20 µl de réaction en suivant le protocole établi*
Substrat:	*100ng d'un plasmide (6000bp) linéarisé par HindIII (cohésives)*
Enzyme:	*100U des enzymes #T4Lig et T4 DNA ligase commerciale*
Conditions de réaction:	*0-5 min à 22°C*
Détermination de l'activité:	*Quantification du pourcentage de produits non-linéaire sur gel d'agarose 0.75% en présence de 0.25X GelRed*

T4 DNA Ligase

Réaction de Ligation

1. Sur glace, mélanger les composantes suivantes

COMPOSANTES	20µl réaction
T4 DNA ligase buffer 10X*	2 µl
ADN vecteur (4 kb) §	50ng
ADN insert (1kb) §	37.5ng
H2O	Compléter à 20µl
T4 DNA ligase (#T4Lig)	1 µl

* Le tampon de réaction doit être dégelé et resuspendu à la température pièce.
§ Utiliser un ratio molaire adéquat pour la ligation. Dans cet exemple, un ratio 1:3 (vecteur: insert) est utilisé.

2. Pour les extrémités cohésives, incuber à 16°C O/N ou 30 minutes à température pièce.
3. Pour les extrémités franches, incuber à 16°C O/N ou 2h à température pièce.
4. Inactiver l'enzyme à 65°C, 10 minutes.
5. Refroidir sur glace et utiliser 1-5µl de la réaction pour transformer 50µl de cellules compétentes.

.: L'utilisation de cette enzyme dans d'autres applications et conditions nécessite une optimisation.

Autres produits et services à la plateforme.

❖ Inventaire d'enzymes de biologie moléculaire

ITEM	*DESCRIPTION*
#RI-L	*RNase inhibitor, 5000U*
#MRT	*MMuLV RT, 10000U*
#Taq-250	*Taq DNA polymérase, 1250U*
#HqPCR-200	*HqPCR polymérase, 1000U*
#HFPCR	*HFPCR polymérase, 500U*
#Pfu-PLUS	*Pfu-PLUS DNA polymérase 100U*
#S-mix	*Supermix qPCR 2X, 5ml*
#T4Lig	*T4 DNA ligase, 20000U*
… et plus!	

• Rencontre les contrôles de qualité spécifiques au produit • Tests fonctionnels effectués • Conseils sur l'utilisation du produit • Ne déboursez que les frais de production • Satisfaction et activité garanties •

❖ Purification personnalisée de protéines, SPR et +

Contactez la plateforme pour plus de détails.

Plateforme de purification des protéines
Faculté de médecine et des sciences de la santé
Département de Microbiologie et Infectiologie
Université de Sherbrooke
3201, rue Jean Mignault, Sherbrooke (Québec) J1E 4K8
Local Z8-1011, Tél 819-821-8000 #72156
SPP_FMSS@USherbrooke.ca