

# Taq DNA Ligase

(*Thermus aquaticus*)

## Taq DNA Ligase

(*Thermus aquaticus*)

Artikel Nr.	Größe
E1070-01	1 000 Einheiten
E1070-02	5 000 Einheiten

**Definition der Einheit:** Eine Einheit wird als die Menge des Enzyms definiert, das erforderlich ist, um 50 % der cos Stellen in 0.4 µg von Sma I und Sal I verdauter Lambda-DNA in einer Minute bei 45 °C zu ligieren.

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

Die thermostabile *Taq* DNA-Ligase katalysiert die Bildung einer Phosphodiester-Bindung zwischen benachbarten 5'-Phosphoryl- 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>.
- Stabil bei erhöhten Temperaturen (45°C-65°C) zur Erhöhung der Hybridisierungsstringenz.
- Das Enzym findet Anwendung in:
  - der allel-spezifischen Genentdeckung, der Ligase-Detektionsreaktion und der Ligase-Kettenreaktion (3,4)
  - der Mutagenese durch den Einbau eines phosphorylierten Oligonukleotides während der PCR-Amplifikation (5)

### Lagerungspuffer (Storage Buffer):

20 mM Tris-HCl (pH 7.6 bei 22°C), 0.1 % [v/v] Brij-35, 50 mM-KCl und 50 % [v/v] Glycerin

### Reaktionsbedingungen der Qualitätskontrolle:

Der Aktivitätsassay wird mit 0.4 µg Sma I und Sal I verdauter Lambda-DNA in einem Volumen von 20 µl durchgeführt. Der Reaktionspuffer besteht aus 20 mM Tris-HCl (pH 7.6 bei 25°C), 25 mM Kalium-Azetat, 10 mM Dithiothreitol, 10 mM Magnesium-Azetat, 0.6-mM NAD<sup>+</sup> und 0.1 % [v/v] Brij-35. Die Reaktion wird durch Agarose Gel-Elektrophorese überprüft.

### Qualitätskontrolle:

Alle Chargen werden auf Endonuklease-, Exonuklease- sowie einzel- und doppelsträngige DNase- Aktivitäten geprüft.

### Literatur:

1. Barany, F. (1991) *PCR Methods and Applications* 1, 5-16.
2. Wu, D.Y. und Wallace, R.B. (1989) *Genomics* 4, 560-569.
3. Barany, F. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 88,189.
4. Barany, F. (1991) *The Ligase Chain Reaction in a PCR World, Cold Spring Harbor Laboratory Press* ISSN pp. 5-16.
5. Mischael, S. F. (1994) *Biotechniques* 16, 411-412.