

T4 DNA Ligase

#T4Lig, T4 DNA ligase 20,000 U (cohesive end unit)..... 30\$
(Suffisant pour 50 réactions de ligation de 20µl)

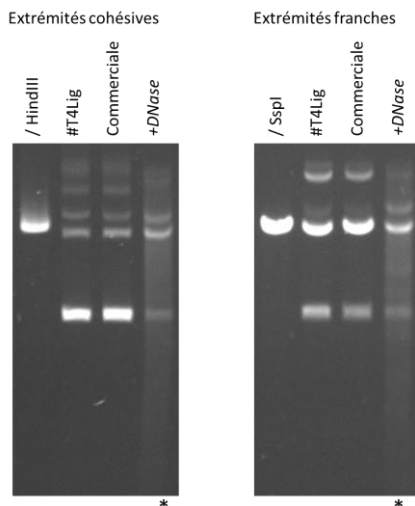
Enzyme utilisée pour la formation d'un lien phosphodiester entre une extrémité 5'phosphate et une extrémité 3'hydroxyl juxtaposées dans un duplex ADN ou ARN.

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.



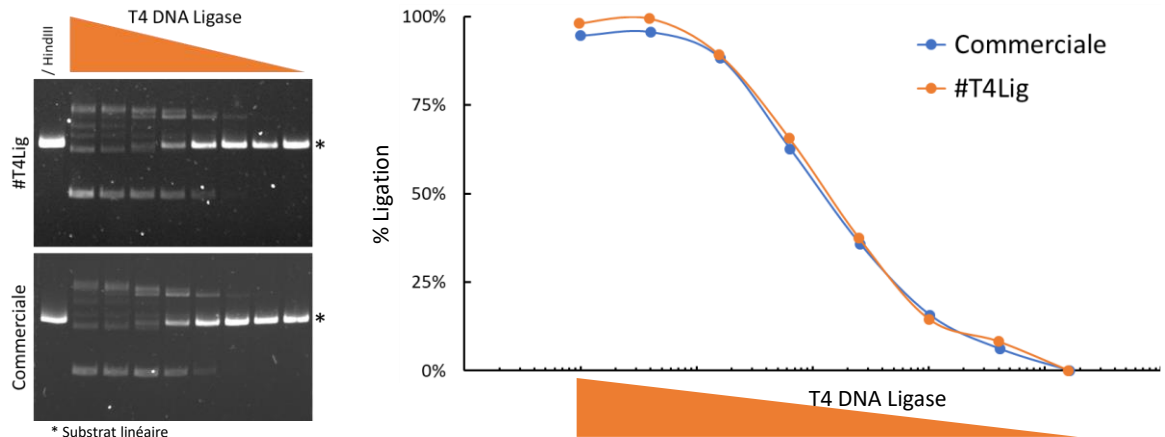
Absence de DNase. Migration sur gel d'agarose des produits de ligation (18h à 16°C) en utilisant différentes T4 DNA ligase sur un substrat présentant des extrémités cohésives ou franches.

*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 ancien lot du service)
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

Activité

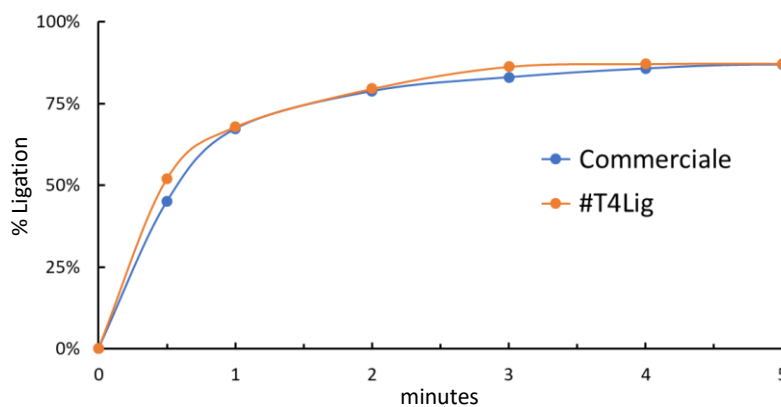
Détermination de l'activité de la T4 DNA ligase (#T4lig, SPP)



Réaction: 20 μ l 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 (#T4lig, SPP)



Réaction: 20 μ l 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

Réaction de Ligation

1. Sur glace, mélanger les composantes suivantes

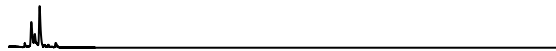
COMPOSANTES	20µl réaction
T4 DNA ligase buffer 10X*	2 µl
ADN vecteur (4 kb) [§]	50ng
ADN insert (1kb) [§]	37.5ng
H2O	Compléter à 20µl
T4 DNA ligase (#T4Lig, SPP)	1 µl

* 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 du S.P.P.

Inventaire d'enzymes de biologie moléculaire

ITEM	DESCRIPTION	FRAIS
#RI-L	RNase inhibitor, 5000U	70 \$
#MRT	MMuLV RT, 10000U	35 \$
#Taq-250	Taq DNA polymérase, 1250U	55 \$
#HqPCR-200	HqPCR polymérase, 1000U	90 \$
#HFPCR	HFPCR polymérase, 500U	60 \$
#Pfu-PLUS	Pfu-PLUS DNA polymérase 100U	55 \$
#S-mix	Supermix qPCR 2X, 5ml	50 \$
#T4Lig	T4 DNA ligase, 20000U	30 \$
... 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 le S.P.P. pour plus de détails.



Bruno Lemieux Ph.D.

Bruno.Lemieux@USherbrooke.ca

Local Z8-1011, Poste 72156

Site Web: <https://www.usherbrooke.ca/medecine/recherche/notre-caractere-distinctif/infrastructure-et-plateformes-de-la-recherche/plateforme-de-purification-des-protéines>