



## Ligase Tth

5 U/μl, für die Molekularbiologie

Die Ligase Tth katalysiert die NAD-abhängige Bildung von Phosphodiester-Bindungen zwischen benachbarten 3'-Hydroxyl- und 5'-Phosphat-Termini in doppelsträngiger DNA.

Das Enzym wird aus einem *Escherichia coli*-Stamm isoliert, der ein Plasmid mit dem *Thermus thermophilus* DNA-Ligase-Gen enthält.

Es ist nicht aktiv bei einzelsträngiger DNA oder RNA sowie blunt end DNA. Die Ligase Tth ist stabil und aktiv im optimalen Bindungstemperaturbereich von 45 – 65 °C, der 7 – 10 °C höher ist als der der Ligase T4. Die endgültige Ligationstemperatur wird durch den  $T_m$ -Wert der Substrate bestimmt. Hohe Ligationstemperatur verhindern eine unspezifische Ligation.

**Unit Definition:** Eine Einheit der Ligase Tth katalysiert die Ligation von 50 % der cos-Stellen in 1 μg der Bakteriophagen-Lambda-DNA in 1 Minute bei 45°C.

**Stabilität:** Das Enzym behält für 1 Woche bei 37 °C Inkubation seine volle Aktivität. Die Halbwertszeit des Enzyms beträgt bei 65 °C etwa 48 Stunden. Der 10x Ligationspuffer ist bei 37 °C 1 Woche lang stabil.

Bis zu zwanzig Einfrier-/Auftauzyklen beeinträchtigen die Leistung des 10x Ligationspuffer nicht.

**Lagerpuffer:** 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 0.1 % Triton X-100, 1 mM DTT, 50 % glycerol

**10x Ligationspuffer:** 200 mM Tris-HCl (pH 8.3), 250 mM KCl, 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM NAD, 0.1 % Triton X-100

### Eigenschaften:

- Robust und aktiv bei hohen Temperaturen
- Sehr spezifische Ligation
- Ligiert doppelsträngige DNA
- Repariert Einzelstrangbrüche in doppelsträngiger DNA

### Protokoll:

- Pipettieren Sie folgende Reagenzien in ein steriles nukleasefreies Reaktionsgefäß

Komponente	Volumen
DNA	0.5 – 1 μg
10x Ligationspuffer	2.5 μl
Ligase Tth (5U/μl)	0.5 – 1 μl
Nukleasefreies Wasser	auffüllen auf 25 μl

- Vorsichtig mischen
- Inkubation für 10 Minuten bei 45 – 65 °C. Die optimale Ligationstemperatur wird von der  $T_m$  der Substrate bestimmt
- Der Kit enthält:  
Ligase Tth (5 U/μl)  
Ligationspuffer (10x)

Ligase Tth	250 U	Kunststoff	3736.1
	2500 U	Kunststoff	3736.2

## Instructions for use



### Ligase Tth

5 U/μl, for molecular biology

Ligase Tth catalyses the NAD-dependent formation of phosphodiester bonds between adjacent 3'-hydroxyl and 5'-phosphate termini in double-stranded DNA.

The enzyme is isolated from an *Escherichia coli* strain containing a plasmid with the *Thermus thermophilus* DNA ligase gene.

It is not active against single-stranded DNA or RNA and blunt ended DNA. The ligase Tth is stable and active in the optimal binding temperature range of 45 – 65 °C, which is 7 – 10 °C higher than that of ligase T4. The final ligation temperature is determined by the  $T_m$  of the substrates. High ligation temperature prevents unspecific ligation.

**Unit definition:** One unit of ligase Tth catalyzes the ligation of 50% of the cos sites present in 1 μg of bacteriophage lambda DNA in 1 minute at 45 °C.

**Stability:** The enzyme retains its full activity for 1 week at 37°C incubation. The half-life of the enzyme is about 48 hours at 65°C. The 10x ligation buffer is stable at 37°C for 1 week. Up to twenty freeze/thaw cycles will not affect the performance of the 10x ligation buffer.

**Storage buffer:** 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 0.1 % Triton X-100, 1 mM DTT, 50% glycerol

**10x ligation buffer:** 200 mM Tris-HCl (pH 8.3), 250 mM KCl, 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM NAD, 0.1 % Triton X-100

#### Features:

- Stable and active at high temperature
- Highly specific ligation
- Ligates double-stranded DNA
- Repairs single stranded breaks in double stranded DNA

#### Protocol:

- Pipette the following reagents into a sterile nuclease-free reaction tube

Component	Volume
DNA	0.5 – 1 μg
10x Ligation buffer	2.5 μl
Ligase Tth (5U/μl)	0.5 – 1 μl
Nuclease-free water	Up to 25 μl

- Mix gently
- Incubate for 10 minutes at 45 - 65 °C. The optimal ligation temperature is determined by the  $T_m$  of the substrates
- The kit contains:
  - Ligase Tth (5 U/μl)
  - Ligation buffer (10x)

Ligase Tth	250 U	plastic	3736.1
	2500 U	plastic	3736.2

#### Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe  
P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe  
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0  
Fax: +49 (0) 721/ 5606-149  
info@carlroth.com • www.carlroth.com ip 07/2021

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.