

## Taq DNA لیگاز

### Taq DNA ligase

(Cat-No: M1120)

#### الف) مقدمه

Taq DNA لیگاز آنزیمی با وزن مولکولی ۷۴ KDa است که تشکیل پیوند فسفودی استر بین فسفات ۵' و هیدروکسیل ۳' دو الیگونوکلوئوتید مجاور هم را به کمک  $NAD^+$  کاتالیز می‌کند. واکنش لیگاسیون تنها زمانی رخ می‌دهد که دو نوکلئوتید مجاور هم کاملاً با بازهای روبرو مکمل باشد و همچنین بین آنها فاصله‌ای وجود نداشته باشد. آنزیم Taq DNA لیگاز در دماهای بالا یعنی  $45-65^{\circ}C$  فعال است.

#### ب) منبع آنزیم

آنزیم حاضر یک آنزیم نوترکیب است که زن آن مربوط به لیگاز *Thermus aquaticus HB8* می‌باشد که در باکتری E.coli کلون، بیان و تخلیص شده است.

#### ج) کاربرد

۱- تشخیص ژنی اختصاصی ال (Allele-specific gene detection) با استفاده از واکنش تشخیص لیگاز و واکنش زنجیره‌ای لیگاز

۲- جهش‌زایی که توسط درج یک نوکلئوتید فسفریله شده در طول تکثیر PCR انجام می‌شود.

۳- Gibson assembly

۴- تعیین توالی نسل جدید (NGS)

۵- Ligase detection reaction (LDR)

۶- Repeat expansion detection (RED)

۷- Ligase chain reaction (LCR) یا Ligation amplification reaction (LAR)

۸- Oligonucleotide ligation assay (OLA)

۹- High fidelity gene synthesis

۱۰- Simultaneous multiple site mutagenesis



#### د) شرایط واکنش

DNA و آنزیم، در بافر Taq DNA لیگاز 1x به مدت ۱۵ دقیقه در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  یا در دستگاه ترموسایکلر که دارای برنامه دمایی خاصی برای واکنش‌های تشخیصی است، انکوبه شود. واکنش لیگاسیون را با انکوباسیون مخلوط واکنش در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه، می‌توان متوقف کرد.

#### نکته

- بافر واکنش به دلیل اینکه دارای  $\text{NAD}^+$  است در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  نگهداری شود.
- Taq DNA لیگاز به دلیل اینکه در دمای پایین فعال نیست جایگزین T4 DNA لیگاز نمی‌تواند باشد. ۲ یا ۴ باز انتهای چسبنده که در هضم‌های آنزیم‌های محدود کننده ایجاد شده است در دماهای پایین در مجاور هم پایدار می‌شوند.
- آنزیم Taq DNA لیگاز در بافرهای انواع DNA پلیمرها فعال است.