



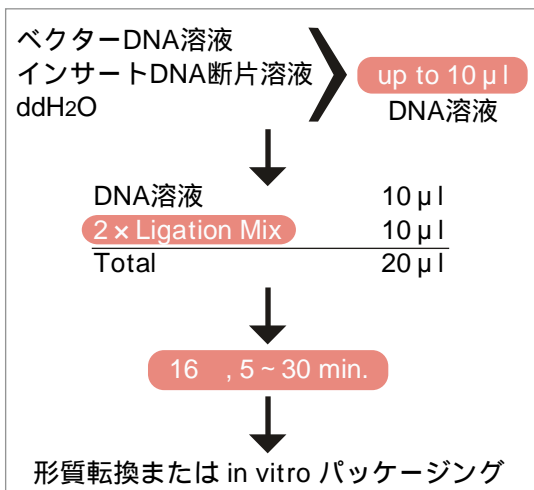
2003年8月

日曜日 月曜日 火曜日 水曜日 木曜日 金曜日 土曜日

					1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31						

Ligation-Convenience kit

Ligation-Convenience kitは、DNAのライゲーションを迅速・簡便に行うためのキットです。
このキットを使用することで、DNAの末端形状に関わらず5～30分でライゲーション反応を行うことができます。



- (1)DNA溶液の調製
適切なモル比のベクター-DNAとインサートDNAを混合し、ddH₂Oで10 µlにメスアップする。
- (2)ライゲーション反応液の調製
DNA溶液に等量の2 × Ligation Mixを加え、混合する。
- (3)ライゲーション反応
16 °Cで5～30分間反応させる。
- (4)形質転換または in vitro パッケージング
ライゲーション反応液をそのまま形質転換や in vitro パッケージングに用いる。

参考 ベクター：インサートモル比の検討

ライゲーションの際のベクター：インサートの比は、ライゲーション効率に大きく影響します。以下は、ニッポンジーンで様々な長さのインサートDNAをライゲーション、形質転換した結果、それぞれ下記の特定の条件で最も良い結果が得られたモル比を示した表です。

インサート長	200 bp	600 bp	1000 bp	3000 bp
粘着末端	10	5 ~ 10	2 ~ 10	0.5 ~ 2
平滑末端	5	5	2 ~ 10	0.5 ~ 2
TAクローニング	10	5	5	1

数字はベクターを1とした場合のインサートDNAのモル比

実験条件

粘着末端

ベクター：EcoR I で切断したpUC19、0.03 pmol
インサート：EcoR I で切断したインサートDNA
0.015 pmol、0.03 pmol、0.06 pmol、0.15 pmol、0.3 pmol
ライゲーション反応：16 °C、5分間

平滑末端

ベクター：Sma I で切断したpUC19、0.03 pmol
インサート：Sma I で切断したインサートDNA
0.015 pmol、0.03 pmol、0.06 pmol、0.15 pmol、0.3 pmol
ライゲーション反応：16 °C、5分間

TAクローニング

ベクター：pGEM®-T Easy(Prom ega)、0.03 pmol
インサート：Gene Taq NT(Code No. 318-03231)で増幅したPCR産物
0.015 pmol、0.03 pmol、0.06 pmol、0.15 pmol、0.3 pmol
ライゲーション反応：16 °C、5分間