D

cDNA 합성 · Cloning

D-a 유전공학 kit/Ligation • Cloning

DNA Ligation Kit 〈Mighty Mix〉 D-2
TaKaRa DNA Ligation Kit LONG D-2
DNA Ligation Kit D-3
DNA Blunting Kit D-3
Mighty TA-cloning Kit D-4
Mighty TA-cloning Reagent set for PrimeSTAR D-4
T-Vecter pMD20/pMD19(Simple) D-5
Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End) D-6
TaKaRa LA PCR *in vitro* Cloning Kit D-7
Kilo-Sequence용 Deletion Kit D-8
DNA Fragmentation Kit D-8
PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit D-9
PrimeScript 1st strand cDNA Synthesis Kit D-10
cDNA Synthesis Kit (M-MLV version) D-10
cDNA PCR Libray Kit D-11
cDNA Libray Construction Kit D-11
Mutan-Super Express Km D-12
ODA-LA PCR법의 원리 D-12

D-b 효모 형질전환 시스템

Aureobasidin A 내성 효모 형질전환 시스템 D-13
Aureobasidin A D-14
pAUR101 DNA D-14
pAUR112 DNA D-15
pAUR123 DNA D-16
pAUR224 DNA D-17
pAUR135 DNA D-18
pAUR316 DNA D-19
Pyrithiamine 내성 형질전환 시스템 D-20
pPTR I DNA D-20
pPTR II DNA D-21
Fast Yeast Transformation Kit D-21

D-c Vector

pUC18/pUC19 DNA D-22
pUC118/pUC119 DNA D-23
pSTV28/pSTV29 DNA D-24
pTWV228 DNA D-24
pKF3 DNA D-25
pKF18k-2/pKF19k-2 DNA D-26
pBR322 DNA D-26
M13mp18 Single Strand DNA (Virion DNA) D-27
pHY300PLK DNA D-27
pHCE vector 시리즈 D-28
기타 vector D-29

D-d Competent Cells & Electro-Cells

E. coli HB101 Competent Cells D-31
E. coli JM109 Competent Cells D-31
E. coli CJ236 Competent Cells D-31
E. coli BMH71-18 mutS Competent Cells D-31
E. coli MV1184 Competent Cells D-31
E. coli TH2 Competent Cells D-31
E. coli DH5α Competent Cells D-31
E. coli HST02 Competent Cells D-31
E. coli HST08 Premium Competent Cells D-31
E. coli HST04 dam-/dcm- Competent Cells D-31
E. coli HB101 Electro-Cells D-31
E. coli JM109 Electro-Cells D-31
E. coli MV1184 Electro-Cells D-31
E. coli HST02 Electro-Cells D-31
E. coli DH5α Electro-Cells D-31
E. coli HST08 Premium Electro-Cells D-31
Chaperone Competant Cells BL21 Set D-32
Chaperone Competant Cells pG-KJE8/BL21 D-32
Chaperone Competant Cells pGro7/BL21 D-32
Chaperone Competant Cells pKJE7/BL21 D-32
Chaperone Competant Cells pG-Tf16/BL21 D-32
Chaperone Competant Cells pTf16/BL21 D-32
TaKaRa Competant Cells BL21 D-32
Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro-Cells D-33

D-e 기타 (유전공학 관련)

DNA-OFF D-34
RNase-OFF D-34
IPTG (dioxane free) D-34
X-Gal D-34
Proteinase K D-35
Westase D-35
Yatalase D-35
TBE (Tris-borate-EDTA) powder D-36
Tris-Glycine-SDS powder D-36
Tris-Glycine powder D-36
PBS (Phosphate Buffered Salts) Tablets D-37
Bovine Serum Albumin 용액 D-37
RNase-free Water D-37

유전공학 Kit / Ligation • Cloning

DNA Ligation Kit (Mighty Mix)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
DNA Ligation Kit (Mighty Mix)	TKR	6023	1 Kit	180,000원

■ 내용 (100 회*)

Ligation Mix	150 μl ×5

*1반응 당 7.5 μl 사용시 100회

■ 보존 - 20℃

■ 제품설명

DNA 단편의 ligation은 유전자 조작 실험 중 가장 빈번히 사용하는 실험으로 DNA사이의 결합에는 T4 DNA ligase가 사용되고 있다. 일반적으로 ligation은 DNA 말단 구조에 따라 반응속도가 달라지기 때문에 DNA의 말단 형상에 따라 첨가하는 효소의 양이나 반응 시간 등을 조절해야 한다. 당사에서는 이러한 복잡함을 없애고, 일반적인 ligation 반응을 보다 신속, 간편하게 하기 위하여 「DNA Ligation Kit」을 개발하여 DNA Ligation Kit Ver.1과 Ver.2.1로 판매하고 있다. 본 제품은 기존 판매되는 DNA Ligation Kit를 개선한 것으로 ligation 효율 및 사용 편리성을 증대시켰다.

■ 특징

- **조작이 간단**
  Ligation Mix를 DNA 용액과 혼합함으로써 모든 조작이 끝나며, 반응 후 ligation 반응액 그대로 별도의 처리없이 transformation 이나 *in vitro* packaging에 이용할 수 있다.
- **평활말단 ligation에 최적**
  돌출말단, TA cloning뿐 아니라, 일반적으로 효율이 낮은 평활말단 ligation에서도 종래 버전의 동등 이상의 효율을 얻을 수 있다.
- **5분만에 ligation OK**
  표준 프로토콜은 16℃, 30분 반응이지만, 간단한 plasmid vector ligation은 25℃, 5분 반응으로도 가능하다.

■ 반응액 및 반응 조건

	DNA용액 : ligation Mix의 용량비	반응 조건
Plasmid vector에 외래 DNA 삽입 【표준 프로토콜】 【고속 프로토콜】	1 : 1	16℃, 30분 25℃, 5분
T vector에 PCR산물 cloning	1 : 1	16℃, 30분
Linker ligation, Adaptor ligation Plasmid vector에 Linker DNA 삽입 cDNA에 Adaptor , Linker ligation	1 : 1 1 : 2	16℃, 30분
λ phage vector에 외래 DNA 삽입* (*in vitro* packing)	1 : 2	26℃, 10분

* Ver.1과 동일한 효율을 얻었으나, 사용액량에서는 Ver.1사용이 보다 유리하다.

긴 단편 클로닝에 최적

TaKaRa DNA Ligation Kit LONG

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
TaKaRa DNA Ligation Kit LONG	TKR	6024	1 Kit	180,000원

■ 내용 (50 회*)

DNA Ligase 〈LONG〉	50 μl
10 x LONG Ligation Buffer	300 μl
Control Vector (pUC118/*Hin*d III/BAP)	10 μl
Control insert DNA/*Hin*d III (18 kb)	30 μl
dH2O	1 ml ×2

* 50 μl 반응시, 돌출말단의 경우는 50 회, 평활말단의 경우는 10 회에 해당한다.

■ 보존 - 20℃

■ 제품설명

본 제품은 긴 단편의 DNA를 높은 효율로 ligation하기 위해 개발된 kit이다. DNA Ligase 및 반응 버퍼가 긴 단편의 DNA ligation에 최적화되어 있다. 특히 10 kb 이상의 단편을 이용하여 ligation하는 경우에 유용하다. 또한 BAC library* 등 긴 단편의 DNA library 제작에도 적합하다.
높은 효율을 위해 transformation시 *E.coli* HST08 Premium Competent Cells (Code 9128), *E.coli* HST08 Premium Electro-Cells (Code 9028)을 사용하기를 권장한다.

* 메틸화된 DNA로부터 BAC library를 구축할 경우, 메틸화된 DNA의 인식· 절단에 관한 유전자 및 F를 결손한 대장균주(*mcr*A, *mcr*BC, *hsd*RMS, *mrr*, F 주)을 사용해 주세요.

DNA Ligation Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
DNA Ligation Kit Ver.1	TKR	6021	1 kit	180,000원
DNA Ligation Kit Ver.2.1	TKR	6022	1 kit	180,000원

■내용 (50 회)

DNA Ligation Kit Ver.1

A액	Reaction Buffer	1,000 μl ×3
B액	Enzyme Solution	187.5 μl ×2

* 1반응당 B액을 7.5μl 씩 사용시 50회분

DNA Ligation Kit Ver.2.1

I액	Enzyme Solution	250 μl ×3
II액	Concatenation Buffer	750 μl ×1
III액	Transformation Enhancer	200 μl ×1

* 1반응당 I액을 7.5μl 씩 사용시 100회분

■보존 - 20℃

Ver 2.1의 III액은 용해 후 실온보관

DNA Blunting Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
DNA Blunting Kit	TKR	6025	20 회	214,000원

■내용 (20 회)

T4 DNA Polymerase	20 μl
10× Buffer (dNTP 포함)	30 μl
DNA Dilution Buffer	500 μl
Ligation Solution A*	600 μl ×2
Ligation Solution B*	150 μl

*Ligation Solution A, B는 DNA ligation Kit Ver.1 (Code 6021)의 시약과 같다.

■보존 - 20℃

■제품설명

DNA Blunting Kit는 T4 DNA polymerase의 5' → 3' polymerase 활성과 3' → 5' exonuclease 활성을 이용하여 DNA 말단을 평활화함으로써 돌출말단 DNA를 간단히 평활말단의 vector에 연결하는 시스템이다.

DNA가 5' 돌출말단의 경우는 5' → 3' polymerase 활성에 의해 3' 함몰부분에 염기가 부가되고, 5' 함몰말단의 경우는 3' → 5' exonuclease 활성에 의해 3' 돌출부분을 분해하여 평활말단화한다. 이 말단 평활화 반응은 동시에 일어나므로 말단형상이 불분명한 DNA라도 간단히 평활화할 수 있다. 평활말단화한 DNA는 Takara Bio 독자의 ligation 시스템을 통하여 고효율로 평활말단의 vector 등에 연결할 수 있어 PCR 증폭 후의 DNA나 클로닝에 부적당한 말단을 갖는 삽입 DNA를 평활말단 vector에 ligation할 때에 특히 유용하다.

본 제품은 돌출말단 vector를 평활말단 vector로 변경할 경우에도 효과적이다. 평활화 시킨 vector는 Alkaline Phosphatase (Code 2120A, 2250A)로 탈인산화하여 사용한다.

T-vector와 2x ligation mix를 이용한 TA-cloning에

Mighty TA-cloning Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mighty TA-cloning Kit	TKR	6028	20 회	168,000원

■내용 (10 회)

pMD20-T vector (50 ng/㎕)	20㎕
Ligation Mighty Mix*1	50㎕ ×2
Positive Control Insert*2	10㎕

*1 Ligation Mighty Mix는 DNA Ligation Kit 〈Mighty Mix〉 (Code 6023)와 같은 것임.

*2 3' 말단에 dA overhang을 가지는 약 200 bp의 DNA fragment (*E. coli* genome을 주형으로 *TaKaRa Ex Taq*으로 증폭함)(10 ng/㎕)

■보존

- 20 ℃

■제품설명

Mighty TA-cloning Kit (Code 6028)는 cloning 후 insert 확인, sequencing 및 *in vitro* transcription 등 부가적인 실험이 가능하도록 설계된 multi-cloning site (MCS)를 가지고 있는 pMD20-T vector와 Takara Bio의 베스트셀러 중 하나인 DNA Ligation Kit〈Mighty Mix〉로 구성되어 있어 간편하면서도 단시간에 ligation 반응을 수행할 수 있는 kit이다.

■pMD20-T vector의 구조

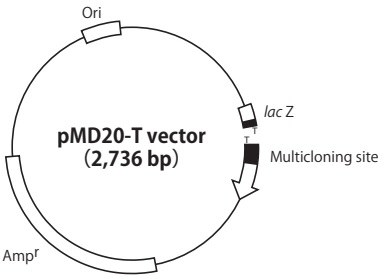


그림 1. pMD20-T vector의 구조

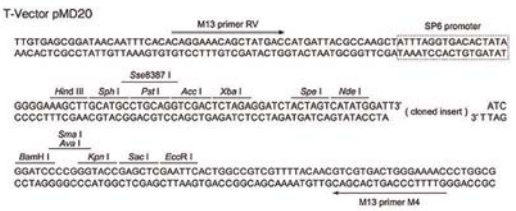


그림 2. pMD20-T vector의 MCS site

PrimeSTAR로 증폭한 PCR 산물의 TA-cloning에

Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR®

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR	TKR	6019	20 회	255,000 원

■내용 (20 회)

A. Mighty TA-cloning Kit	
pMD20-T vector (50 ng/㎕)	20 ㎕
Ligation Mighty Mix*1	50 ㎕×2
Positive Control Insert*2	10 ㎕
B. A-overhang mixture	
A-overhang enzyme	10 ㎕
10×Buffer	20 ㎕
dATP	10 ㎕

*1 Ligation Mighty Mix는 DNA Ligation Kit 〈Mighty Mix〉 (Code 6023)과 같은 것임.

*2 3' 말단에 dA overhang을 가지는 약 200 bp의 DNA fragment (*E. coli* genome을 주형으로 *TaKaRa Ex Taq*으로 증폭함) (10 ng/㎕)

■ 보존

- 20 ℃

■ 제품설명

PrimeSTAR HS DNA Polymserase (Code R010A) 등의 α형 DNA polymerase (Pyrobest, *Pfu*, *Vent*등 포함)에 의해 증폭된 PCR산물의 대부분은 효소가 가지는 강력한 3'→5'exonuclease 활성에 의해 PCR 산물 양 말단이 평활화 되어 그대로 TA-cloning에 사용할 수 없다. 따라서 PrimeSTAR 시리즈에 의해 증폭된 PCR 산물을 TA-cloning에 이용하는 경우, 3'말단에 dA를 부가할 필요가 있다.

본 제품에는 PrimeSTAR시리즈에 의해 증폭된 산물의 3'말단에 간편하게 dA를 부가하기 위한 A-overhang mixture 및 Mighty TA-cloning Kit가 포함되어 있어 PrimeSTAR 시리즈 (*Pfu* 계열의 PCR 효소 포함)에 의한 증폭 산물 전용 TA-cloning 시약으로 사용할 수 있다.

■pMD20-T vector의 구조

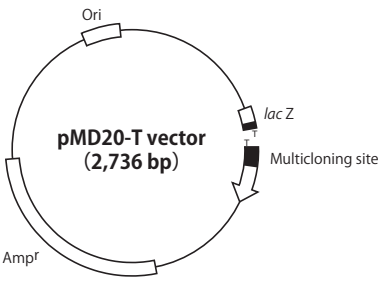


그림 1. pMD20-T vector의 구조

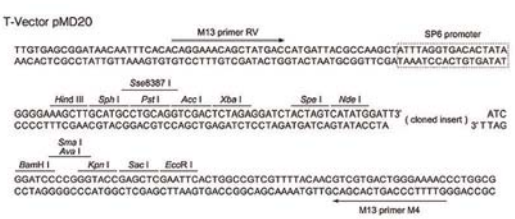


그림 2. pMD20-T vector의 MCS site

TaKaRa T-Vector pMD20/pMD19(Simple)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
T-Vector pMD20	TKR	3270	1 μg	119,000원
T-Vector pMD19 (Simple)	TKR	3271	1 μg	119,000원

■ 내용

T-Vector pMD20 또는 T-Vector pMD19 (Simple) (50 ng/μl)	20 μl
Control Insert(50 ng/μl)*	10 μl

*1 3' 말단에dA overhang을 가지는 약 500 bp의 DNA fragment

■ 보존

- 20℃

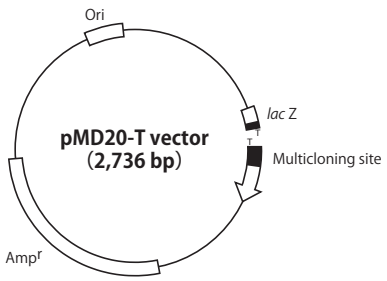
■ 제품설명

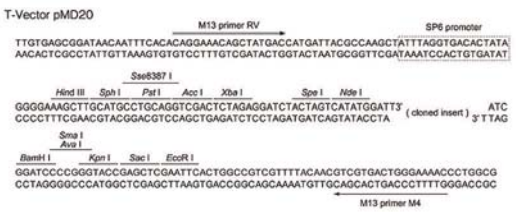
Taq DNA polymerase (*TaKaRa Taq*,*TaKaRa Ex Taq*,*TaKaRa LA Taq*, SpeedSTAR HS 등)는 합성 산물의 3'말단에 dA를 부가하는 성질을 가지고 있어, 이러한 효소를 이용해 증폭된 PCR산물은 TA cloning에 이용할 수 있다. 본 제품은 PCR산물의 간편한 클로닝을 위해서 설계된 벡터로, *Eco*R V 사이트로 절단된 각 3'말단에 dT가 부가되어 있어, *Taq* DNA polymerase 계열의 효소로 증폭된 PCR산물과 직접 ligation할 수 있다. 또, T-Vector pMD20은 MCS site 상류에 SP6 promoter 서열을 가지고 있어, SP6 RNA polymerase를 이용해 클로닝 유전자에 상보적인 single strand RNA의 합성도 가능하다. T-Vector pMD19 (Simple)는 pUC19을 기본으로 설계되어 있지만, pUC19 MCS site가 모두 제거되어 있어 클로닝 후 PCR 산물상의 제한효소 사이트를 이용하는 경우에 유용하다.

■ 품질 검정

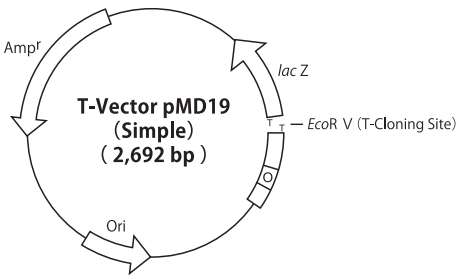
본 제품과 control insert를 DNA Ligation Kit Ver. 2.1로 ligation 한 후 *E. coli* JM109 Competent Cells에 형질 전환했을 경우, > 1×10^5 cfu/μg의 콜로니를 얻을 수 있었다. 그 중 90% 이상이 백색 콜로니였고, 백색 콜로니의 90% 이상이 목적 insert를 포함하고 있는 것을 colony PCR로 확인하였다.

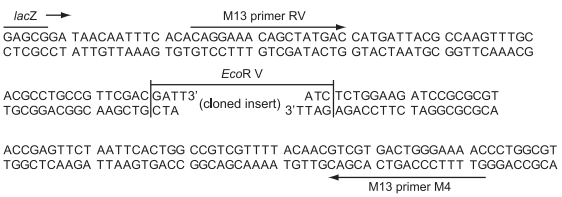
■ pMD20-T vector의 구조





■ pMD19 (Simple) vector의 구조





Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End)	TKR	6027	20 회	324,000원

■ 내용

10 X Blunting Kination Buffer	40㎕
Blunting Kination Enzyme Mix	20 ㎕
Ligation Mighty Mix *1	120 ㎕
pUC118 *Hin*c II / BAP (50 ng / ㎕)	20 ㎕
Control Insert *2 (200 ng / ㎕)	10 ㎕
ddH2O	500㎕

*1 Ligation Mighty Mix는 DNA Ligation Kit 〈Mighty Mix〉 (Code 6023)와 동일합니다.

*2 λDNA을 주형으로 *TaKaRa Ex Taq*에서 증폭된 500 bp의 PCR fragment.

■ 보존 - 20℃

■ 제품설명

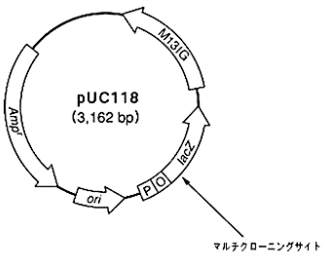
본 제품은 PCR 산물을 평활 말단 vector에 빠르고 편리하게 클로닝하는 시약 세트이다. PCR 산물의 인산화와 말단 평활화를 동시에 진행한다. 평활 말단 PCR 산물은 물론 dA가 추가된 PCR 산물에서도 한번의 반응으로 ligation 할 수 있는 DNA 단편을 얻을 수 있다. PCR 산물은 dNTP와 primer 제거 등의 전처리 필요 없이 그대로 Blunting Kination 반응에 사용될 수 있다. 또한 ligation 반응은 매우 효율적인 DNA Ligation Kit 를 사용하기 때문에 ligation 반응까지 작업을 매우 짧은 시간에 끝낼 수 있다.

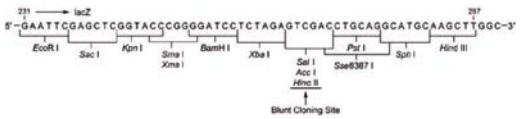
■ Kit 이외의 필요한 시약

Competent cell or Electro cell
SOC culture medium
Ampicillin/ X-Gal/ LB plate added with IPTG

■ pUC118 Hinc II / BAP

pUC118 DNA (BAP-treated) is a useful blunt-end clonig vector, prepared by cleavage with Hinc II, then dephosphorylated by alkaline phosphatase purified from *E. coli* (BAP). The sequence of DNA cloned into this vector can be verified with M13 primer M4 and RV





TaKaRa LA PCR™ *in vitro* Cloning Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
TaKaRa LA PCR *in vitro* Cloning Kit	TKR	RR015	10 회	436,000원
Cassette, Sau 3A I	TKR	3873	165 pmol (5 μg)	119,000원
Cassette, EcoR I	TKR	3869	16.5 pmol (500 ng)	119,000원
Cassette, Hind III	TKR	3870	16.5 pmol (500 ng)	119,000원
Cassette, Pst I	TKR	3871	16.5 pmol (500 ng)	119,000원
Cassette, Sal I	TKR	3872	16.5 pmol (500 ng)	119,000원
Cassette, Xba I	TKR	3874	16.5 pmol (500 ng)	119,000원
Cassette, Primer C1	TKR	3877	1,000 pmol	119,000원
Cassette, Primer C2	TKR	3878	1,000 pmol	119,000원

■ 내용 (RR015,10 회)

*Sau*3A I Cassette (200 ng/μl)	25 μl
*Eco*R I Cassette (20 ng/μl)	25 μl
*Hin*d III Cassette (20 ng/μl)	25 μl
Pst I Cassette (20 ng/μl)	25 μl
Sal I Cassette (20 ng/μl)	25 μl
Xba I Cassette (20 ng/μl)	25 μl
Cassette Primer C1(10 pmol/μl)	20 μl
Cassette Primer C2 (10 pmol/μl)	20 μl
Ligation Solution I*	150 μl
Ligation Solution II*	75 μl
TaKaRa LA Taq (5 U/μl)	10 μl
10×LA PCR Buffer II (Mg^{2+} plus)	100 μl
dNTP Mixture (각 2.5 mM)	160 μl
Control DNA fragment (100 ng/μl)	25 μl
Control Specific Primer CS-1 (10 pmol/μl)	10 μl
Control Specific Primer CS-2 (10 pmol/μl)	10 μl

*Ligation Solution Ⅰ, Ⅱ는 DNA Ligation Kit Ver. 2.1 (Code 6022)의 시약과 동일하다.

■ 보존 - 20℃

■ 제품설명

본 제품은 Cassette와 Cassette Primer를 사용함으로써 cDNA나 genome 상의 미지의 영역을 PCR법에 의해 특이적으로 증폭시키는 종래의 PCR *in vitro* Cloning Kit에 보다 긴 단편의 DNA를 더욱 정확하게 증폭하는 LA PCR 기술을 응용한 시스템이다. 따라서 종래에 증폭하기 어려웠던 긴 단편의 미지영역을 간단히 클로닝 할 수 있다. 또 LA PCR 기술은 종래의 PCR보다 높은 정확성을 갖고 있으므로 클로닝 시에 일어날 수 있는 돌연변이 (mismatching)의 발생도 감소시킬 수 있다.

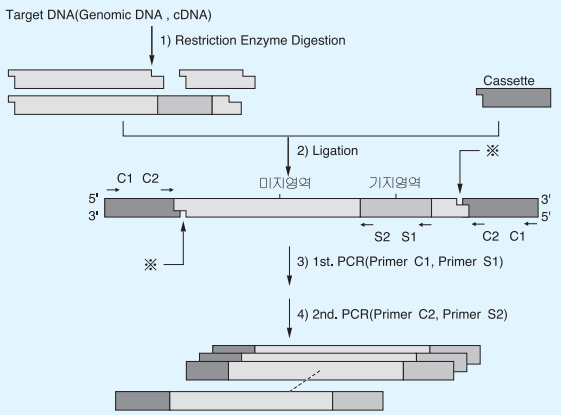
본 kit로 복잡한 phage 등의 library 조제, 스크리닝을 하지 않고도 목적하는 genome 등의 긴 길이의 DNA를 얻을 수 있다.

■ License Notice RR015 : [M57]

▶ PCR을 이용한 미지영역 DNA의 클로닝 원리

1) 클로닝하고자 하는 DNA를 적당한 제한효소로 완전하게 절단한다.
2) Ligation 반응으로 대응하는 제한효소 서열을 갖는 cassette를 연결한다.
3) Cassette Primer (Primer C1)와 DNA 상의 기지영역에 상보적인 Primer (Primer S1)를 이용해 1st PCR을 실시한다.
4) 3)의 반응액 일부를 사용하여 1st PCR의 primer보다 내측의 primer C2와 Primer S2로 2nd PCR을 실시하여 목적 DNA 단편만을 증폭한다.

Cassette의 5′ 말단은 인산기가 붙어 있지 않아 목적 DNA의 3′ 말단과 cassette의 5′ 말단과의 접속부분은 nick 상태가 된다. 따라서 1st PCR에서 Primer C1으로부터의 합성은 이 접속부분에서 멈추게 되어 비특이적 증폭이 일어나지 않는다. Primer S1으로부터 합성된 DNA만 Primer C1의 합성에 주형이 되어 상보성 가닥을 형성한다. 2nd PCR은 내측의 primer (Primer C2, Primer S2)로 실시함으로써 고효율로 특이적인 증폭을 실시할 수 있다. 단백질의 아미노산 서열을 부분적으로 알 수 있는 경우는 그 정보를 기본으로 제작한 혼합된 primer를 사용함으로써 단백질을 code하고 있는 cDNA를 클로닝할 수 있다.



※ 이 부분에 nick이 있으므로, 1st PCR에서의 primer C1의 합성은 이 부분에서 정지한다.

Kilo-Sequence용 Deletion Kit

MSDS

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Kilo-Sequence용 Deletion Kit	TKR	6030	5회	189,000원

■내용 (5 회)

Exonuclease III (180 U/㎕)	10 ㎕
Exo III Buffer	500 ㎕
Mung Bean Nuclease (25 U/㎕)	20 ㎕
MB Nuclease Buffer	500 ㎕
Klenow Fragment (2 U/㎕)	10 ㎕
Klenow Buffer	250 ㎕
Ligation Solution A*	500 ㎕
Ligation Solution B*	60 ㎕

* DNA Ligation Kit Ver.1 (Code 6021)에 포함된 시약과 동일

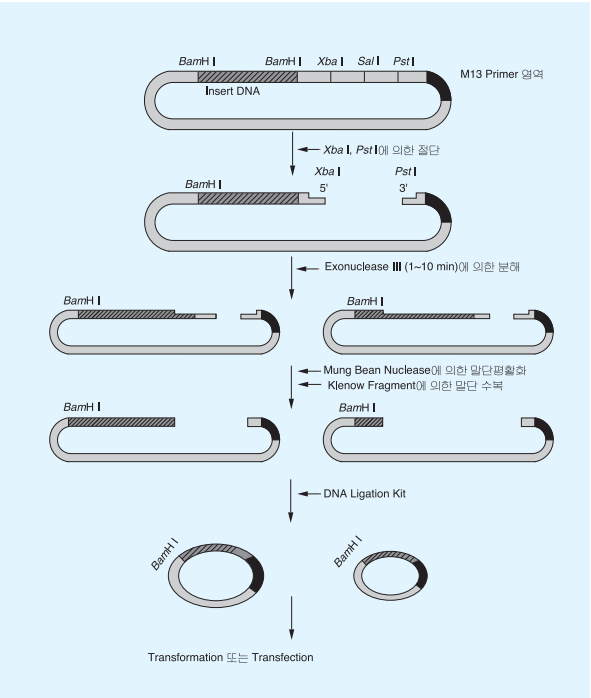
■보존 - 20℃

■제품설명

Kilo-Sequence용 Deletion Kit는 M13계 또는 pUC계 벡터 등에 삽입된 DNA 단편을 말단으로부터 분해하여, 각각 길이가 다른 단편을 갖는 클론을 얻기 위한 kit이다. 이와 같은 클론을 이용하여 긴 단편 염기서열 결정에 효과적으로 사용할 수 있으며, 또 목적 단편만을 갖는 클론의 제작 등에 적당하다. 본 kit는 Henikoff의 방법과 Yanisch-Perron의 방법을 개량한 방법이다.

■긴 DNA 단편의 염기서열 결정의 원리

본 제품은 Exonuclease III의 3′ - recessed end 또는 평활말단에서 특이적인 dsDNA 3′ → 5′ exonuclease 활성을 이용한 ssDNA 제조와 Mung Bean nuclease에 의한 ssDNA 분해활성의 조합으로, M13계 또는 pUC계 vector 등에 삽입된 DNA 단편을 말단으로부터 분해하여, 각각 길이가 다른 단편을 갖는 클론을 효과적으로 제작할 수 있는 kit이다. 본 kit를 이용함으로써 긴 단편 DNA를 염기서열 결정에 적당할 정도로 일련의 deletion mutant를 제작할 수 있을 뿐만 아니라, 목적 영역만을 포함하는 클론의 제작에도 이용할 수 있다.



M13mp18 *Bam*H I site에 클로닝된 DNA 단편을 deletion 시키는 경우

초음파 파쇄 장비없이 genomic DNA를 단편화

DNA Fragmentation Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
DNA Fragmentation Kit	TKR	6137	20 회	244,000 원

■내용 (5 회)

Enzyme-1	20 ㎕
Dilution Buffer-1	1,040 ㎕
A solution	20 ㎕
B solution	50㎕
Stop solution	400 ㎕
150 mM $MgCl_2$	40㎕
Dilution Buffer-2	200 ㎕
Enzyme-2	20 ㎕
0.5 M EDTA	50 ㎕
dH_2O	1 ㎖ x 10 ea

■보존 - 20℃

(A,B Solution, $MgCl_2$, EDTA는 4℃에도 보존 가능)

■제품설명

본 제품은 초음파 파쇄 장치와 같은 특수 장비를 사용하지 않고도, 효소를 처리하여 genomic DNA와 같은 긴 사슬 DNA를 무작위로 단편화(fragmentation)하고, 단편 말단으로 평활화할 수 있다. 평활화된 조각은 그대로 평활 말단 vector에 클로닝할 수 있다. 또한, 평활화를 필요로 하지 않는 경우에는 단편화 과정까지만 수행할 수 있다. 메틸화 DNA 농축이나 고속 염기서열 분석을 위한 전 처리에 본 제품을 사용할 수 있다.

■단편화

Genomic DNA 100 ng 이하의 경우 : 10 ㎕ 반응

Genomic DNA 100 ng ~ 1 ㎍의 경우 : 20 ㎕ 반응

※ 1 ㎍ 이상일 경우 1 ㎍/20 ㎕를 반응 단위로 반응 tube를 늘릴 수도 있으며, 최대 5 ㎍/100 ㎕ 반응계까지 증가 시킬 수 있다.

Genomic DNA 200 ~ 250 ng에 상당하는 양을 1.5 % Agarose L03에서 전기 영동하여, 단편화를 확인할 수 있다.

PrimeScript® II 1st strand cDNA Synthesis Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit	TKR	6210A	50 회	290,000원

■ 내용 (50 회)

PrimeScript II RTase (200 U/㎕)	50 ㎕
5×PrimeScript II Buffer	200 ㎕
RNase Inhibitor (40 U/㎕)	25 ㎕
dNTP Mixture (각 10 mM)	50 ㎕
Oligo dT Primer (50 ㎛M)	50 ㎕
Random 6mers (50 ㎛M)	100 ㎕
RNase free dH2O	1 ㎖

■ 보존 - 20 ℃

■ 특징

- 백그라운드를 최저로 억제해 고품질 cDNA 합성 가능
- 뛰어난 신장능력으로 full length cDNA 합성
- 42℃ 반응에서도 복잡한 구조의 RNA의 증폭 가능

■ 제품설명

PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit는 PrimeScript II RTase를 이용해 total RNA 혹은 poly(A)+ RNA에서 1st strand cDNA를 합성하기 위한 kit이다. 1st strand cDNA를 합성하기 위한 모든 시약이 포함되어 있어 곧바로 실험을 시작할 수 있다. 합성된 1st strand cDNA는 2nd strand 합성, hybridization, PCR법에 의한 증폭 등 폭넓게 사용할 수 있고, full-length cDNA library 제작 등 고품질의 full-length cDNA가 필요한 실험에 적절하게 사용할 수 있다.

복잡한 구조의 RNA나 길이가 긴 RNA를 주형으로 했을 경우, RNA의 고차 구조로 인해 역전사효소가 비특이적으로 결합하면 cDNA 합성을 방해한다. 또한, 역전사효소의 mis-priming에 의한 비특이적인 신장은 RT-PCR이나 full-length cDNA 합성에 악영향을 미치게 된다. PrimeScript II RTase는 다카라바이오가 독자적으로 개발한 PrimeScript RTase에 액세서리 단백질을 이용해 한층 더 효율적으로 만든 것으로, cDNA 합성의 저해 요인을 최대한 억제한 역전사효소이다. PrimeScript II RTase를 이용하면, 특히 poly(A)+ RNA에서 oligo dT primer를 이용하여 역전사 반응할 때 42℃ 로 반응할 수 있어 RNA 분해의 우려가 없고, 백그라운드가 매우 적어 보다 고품질의 full-length cDNA 합성산물을 얻을 수 있다. 물론, PrimeScript RTase 본연의 탁월한 polyA 이용 효율과 합성 스피드는 그대로 유지하고 있다. 이와 함께 반응액 조제시에 생기는 mispriming에 의한 비특이적인 신장 반응이 완전하게 억제되기 때문에 반응액 조제 후 반응할 때까지 얼음 위에 둔 채 다소 시간이 소요되어도 cDNA 합성 저해는 일어나지 않는다.

PrimeScript RTase를 이용한 1st strand cDNA 합성 Kit

PrimeScript® 1st strand cDNA Synthesis Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
PrimeScript 1st strand cDNA Synthesis Kit	TKR	6110A	50 회	279,000원
PrimeScript 1st strand cDNA Synthesis Kit	TKR	6110B (A×4)	200 회	892,800원

■ 내용 (50 회)

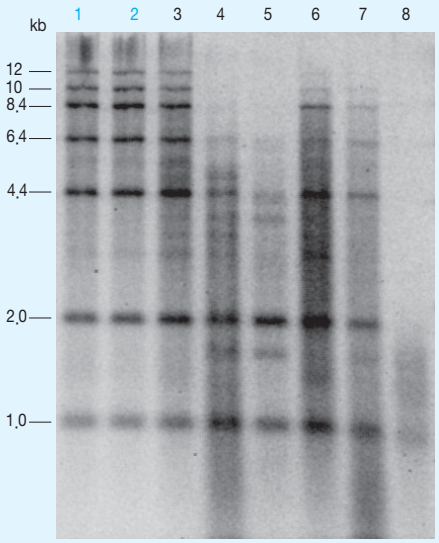
PrimeScript RTase (200 U/μl)	50 μl
5 X PrimeScript Buffer	200 μl
RNase Inhibitor (40 U/μl)	25 μl
dNTP Mixture (각 10 mM)	50 μl
Oligo dT Primer (50 μM)	50 μl
Random 6mers	100 μl
RNase free dH_2O	1 ml

■ 보존 - 20 ℃

■ 제품 설명

본 제품은 PrimeScript RTase를 이용하여 total RNA 또는 poly(A)$^+$ RNA에서 1st strand cDNA를 합성하기 위한 kit이다. 1st strand cDNA의 합성에 필요한 모든 시약을 포함하고 있어 즉시 실험을 시작할 수 있다.
PrimeScript RTase는 M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus)유래의 reverse transcriptase를 기초로 다카라바이오가 독자적으로 개발한 신규 역전사효소로 신장성이 매우 우수하여 12 kb까지 cDNA를 합성할 수 있다.
또한 GC함량이 높은 RNA나 cDNA를 합성하기 어려운 구조를 띠는 RNA에 대해서도 RNA가 분해될 우려가 있는 고온 반응이 필요 없이, 표준적인 역전사반응 온도 (42℃)에서 효율적으로 cDNA 합성이 가능하다.
합성한 1st strand cDNA는 2nd strand 합성, hybridization, PCR법에 의한 증폭, Real Time PCR 등에 폭넓게 사용할 수 있다.

■ 각 사 역전사효소의 1st strand cDNA 합성능 비교



1 : PrimeScript 200 U
2 : PrimeScript 100 U
3 : A사 효소
4 : B사 효소
5 : C사 효소
6 : D사 효소
7 : E사 효소
8 : F사 효소

PrimeScript RTase 는 길이가 긴 cDNA 합성능력이 뛰어나고, background가 적으며 full length cDNA의 비율이 높게 합성된다는 것을 확인하였다 (각사 추천 조건에서 실시).

Double strand cDNA 합성

cDNA Synthesis Kit (M-MLV Version)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
cDNA Synthesis Kit (M-MLV Version)	TKR	6130	RNA 20 μg 용	495,000원

■ 내용 (RNA 20 μg 용)

Reverse Transcriptase (M-MLV) (200 U/μl)	10 μl
RNase Inhibitor (20 U/μl)	10 μl
Oligo$(dT)_{18}$ Primer (1 μg/μl)	20 μl
Random Primer (9 mer) (0.3 μg/μl)	20 μl
5×1st Strand Synthesis Buffer	40 μl
dNTP Mixture (각 10 mM)	40 μl
E. coli RNase H/*E. coli* DNA Ligase Mixture	20 μl
E. coli DNA Polymerase I (20 U/μl)	20 μl
5×2nd Strand Synthesis Buffer	300 μl
T4 DNA Polymerase (1 U/μl)	40 U
Diethyl Pyrocarbonate (DEPC) 처리 H_2O	600 μl ×2
Control RNA (1 μg/μl)	5 μl

■ 보존 - 20℃

■ 제품설명

본 제품은 주로 동식물 유래의 poly(A)$^+$RNA로 부터, double strand cDNA를 합성하기 위한 kit이다. 본 kit은 Gubler-Hoffman의 방법을 기본으로 구성되었다.

- M-MLV 역전사 효소와 $Oligo(dT)_{18}$ Primer 혹은 Random Primer를 이용해 1st strand cDNA를 합성한다.
- *E. coli* RNase H로 mRNA-cDNA hybrid 중의 RNA에 nick을 넣어 *E. coli* DNA Polymerase I과 *E.coli* DNA Ligase의 시스템에 의해 RNA를 DNA로 치환하여 2nd strand DNA를 합성한다.
- T4 DNA Polymerase에 의해 말단을 평활말단화한다.

cDNA PCR Library Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
cDNA PCR Library Kit	TKR	6119	20 회	168,000원

■ 내용 (20 회)

CA Cassette Adaptor (10 μM)	40 μl
Oligo dT-RA Primer (50 pmol/μl)	20 μl
RA Primer (20 pmol/μl)	10 μl
CA Primer (20 pmol/μl)	10 μl
Stop Solution	80 μl
Ammonium Acetate (4 M)	1 ml ×2
Ligation Solution I	240 μl
Ligation Solution II	120 μl

■ 보존 - 20℃

■ 제품설명

본 제품은 PCR법을 이용하여 소량의 mRNA로부터 cDNA library를 제작하기 위한 kit이다. 미량의 RNA 샘플로부터 다수의 증폭반응을 수행하거나, 별도의 nested PCR용 primer를 제작하지 않아도 고감도의 검출을 실시할 수 있는 시스템 (cDNA PCR library)을 구축할 수 있다. 본 제품은 double strand cDNA를 합성하기 위한 kit(cDNA Synthesis Kit) (M-MLV Version)(Code 6130) 및 *Taq* polymerase (*TaKaRa Taq*, *TaKaRa Ex Taq*, *TaKaRa LA Taq* 등)와 조합하여 사용한다.

■ 원리

우선 Oligo dT-RA Primer를 이용해 mRNA를 역전사하고, *E. coli* DNA Polymerase I과 *E. coli* RNase H/*E. coli* DNA Ligase Mixture로 double strand cDNA를 제작한 후, T4 DNA Polymerase로 말단을 평활화한다. 제작된 평활말단 double strand cDNA를 정제하여 CA Cassette Adaptor를 ligation한 후, RA Primer와 CA Primer를 이용하여 PCR을 실시한다. 본 제품의 cassette adaptor는 짧은 가닥의 3′ 말단에 NH_2 가 수식되어 있어 더 이상 증폭되지 않는다. 또한 CA Primer는 cassette adaptor의 짧은 가닥 중 일부 서열로 설계되어 있어 CA Primer만으로는 증폭되지 않고, RA Primer에 의해 신장된 cDNA에 처음으로 CA Primer가 annealing하여 CA Primer와 RA Primer에 의한 증폭만 진행된다. 이와 같은 방법으로 mRNA 유래의 cDNA 전체를 증폭하여 cDNA PCR library를 제작한다.

cDNA Libray Construction Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
cDNA Library Construction Kit	TKR	6136	5 회	741,000원

■ 내용 (5 회)

Reverse Transcriptase (M-MLV) (200 U/μl)	5 μl
RNase Inhibitor (20 U/μl)	5 μl
Oligo $(dT)_{18}$ Anchor Primer (1 μg/μl)	10 μl
5×1st Strand Synthesis Buffer	40 μl
1st Strand dNTP Mixture	6 μl
E. coli RNase H/*E. coli* DNA Ligase Mixture	10 μl
E. coli DNA Polymerase I (20 U/μl)	10 μl
2nd Strand dNTP Mixture	23 μl
5×2nd Strand Synthesis Buffer	150 μl
T4 DNA Polymerase (1 U/μl)	20 μl
10×T4 DNA Ligase Buffer	20 μl
T4 DNA Ligase (350 U/μl)	20 μl
*Eco*R I-*Sma* I Adaptor (0.4 μg/μl)	18 μl
Not I Supplement	135 μl
Not I (50 U/μl)	15 μl
tRNA (10 μg/μl)	5 μl
Dr. GenTLE Precipitation Carrier	60 μl
3 M Sodium Acetate (pH5.2)	1 ml
pAP3neo Predigested Vector (100 ng/μl)*1	5 μl
RNase-free H_2O	640 μl
Control RNA (1 μg/μl)	5 μl
T7 promotor primer*2 (5 pmol/μl)	20 μl
T3 promotor primer (for pAP3neo) (5 pmol/μl)	20 μl
Spin column	5 ea

*1 *Eco*R I, *Not* I으로 절단된 상태이다.

*2 Insert 체크 및 sequencing에 사용가능

■ 보존

Dr. GenTLE Precipitation Carrier, 3 M Sodium Acetate (pH5.2), 스핀 컬럼 : 4℃
그 외 kit내 시약류 : - 20℃

■ 제품설명

진핵생물의 여러 조직이나 세포에서 조제한 poly(A)+ RNA로부터 cDNA를 합성하여 클로닝하는 기술은 분자생물학적 연구에 있어서 중요한 방법의 하나로 유전자의 구조해석이나 목적 단백질의 발현 조작에 활발하게 적용되고 있다. 일반적으로 cDNA 합성과 library는 목적 poly(A)+ RNA에 상보적인 double strand cDNA를 합성해 박테리아나 바이러스 유래의 vector에 클로닝하여 이 cDNA 재조합체를 박테리아 혹은 진핵세포에 도입하여 복제한 후 cDNA를 증폭시켜, cDNA의 해석을 실시하거나 *in vitro* transcription 또는 *in vitro* translation 등에 이용된다.

본 제품은 주로 동식물 유래의 poly(A)+ RNA로부터 double strand cDNA를 합성한 후, 첨부된 pAP3neo 등의 plasmid vector에 재조합하여 cDNA library를 구축하기 위한 kit이다. cDNA library의 구축에는 Gubler-Hoffman 방법에 근거한 linker-primer 법을 사용하고 있어, 유전자의 방향성을 유지하는 directional cloning이 가능하다.

■ 사용상의 주의

본 제품에는 형질전환에 필요한 대장균은 포함되어 있지 않다. 메틸화 DNA에 의한 형질전환 (electroporation법)이 가능한 대장균, *E. coli* HST02 Electro-Cells (Code 9026), Clontech의 Supercharge EZ10 Electrocompetent Cells (Code 636756) 등을 별도로 준비해야 한다.

Mutan®-Super Express Km

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Mutan-Super Express Km	TKR	RR022	20 회	567,000원

■ 내용 (20 회)

TaKaRa LA Taq (5 U/㎕)	10 ㎕
10×LA PCR Buffer II (Mg^{2+} plus)	100 ㎕
dNTP Mixture (각 2.5 mM)	160 ㎕
Selection Primer (5 pmol/㎕)	20 ㎕
Control Synthetic Oligonucleotide (50 pmol/㎕)	5 ㎕
Control dsDNA Solution (pKF19kM) (10 ng/㎕)	5 ㎕
pKF18k-2 DNA (0.5 ㎍/㎕)	10 ㎕
pKF19k-2 DNA (0.5 ㎍/㎕)	10 ㎕
E. coli MV1184 (10% Glycerol Solution)	100 ㎕

Mutan-Super Express Km (Code RR022) 중 pKF18K DNA, pKF 19K DNA는 각각 pKF18k-2 DNA, pKF19k-2 DNA로 명칭이 변경되었지만, 제품 내용은 변경되지 않았다. 제품의 코드번호, 가격, 포장량도 동일하다.

■ 보존 - 20℃ (단, *E. coli* MV1184만 - 80℃)

■ 제품설명

본 제품은 ODA법 (Oligonucleotide-directed Dual Amber법)과 LA PCR기술로 하루만에 변이도입 조작을 완료할 수 있는 kit이다.

■ kit외에 필요한 시약

- Competent cell (*E. coli* MV1184 competent Cells) 또는 Electro-Cell (*E. coli* MV1184 Electro-Cells)
- 변이도입용 합성 Oligonucleotide (5′ 말단 인산화된 것)
- 항생제 (Kanamycin 등)
- 각종 배지, Plate

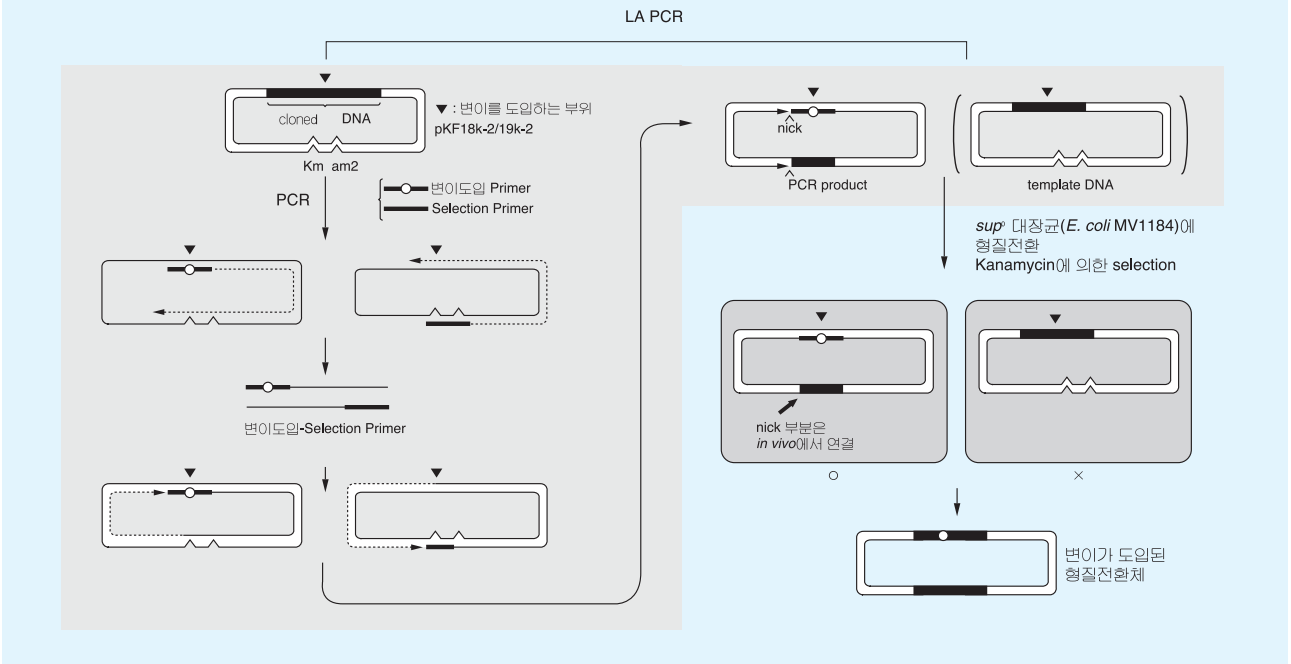
■ License Notice : [M57, M60]

제품명	Mutan-Super Express Km
원리	ODA-LA PCR 법
효율	> 80%
vector	pKF18k-2/19k-2
숙주균	*sup*^{0}주
ssDNA의 조제	불필요
소요시간	1일
특징	PCR 산물을 이용하여 형질전환 (2 kb 이하 DNA 단편변이에 적합)

ODA-LA PCR™ 법의 원리

본 방법 (ODA-LA PCR법)의 원리를 그림에 나타내었다. 본 방법은 Mutan-Express Km의 경우와 같이 vector plasmid pKF18k-2/19k-2를 사용한다. 이 vector는 kanamycin 내성 유전자상에 이중의 amber 변이를 갖고 있기 때문에 대장균 MV1184주와 같은 suppressor free (*sup*^{0})의 숙주에 도입하는 경우, 그 형질전환체는 kanamycin 내성을 나타낼 수가 있다.
이 vector에 목적 DNA단편 (2 kb 이하)을 도입한 후 변이용 oligonucleotide나 amber를 복귀시키는 선별 primer를 PCR primer로 사용하면 그 두 primer 사이의 DNA 서열이 증폭한다. 즉, [변이도입-selection DNA]를 생성한다.

이 DNA를 PCR의 primer로서 이용하는 polymerase 반응이 더 진행하고 annealing을 거쳐 nick (2개)이 들어있는 이중가닥 환상 DNA가 형성된다. 이 DNA의 신장과정에는 LA PCR 기술을 이용하기 때문에 보다 길고 정확한 신장 반응이 이루어진다. 이것을 *sup*^{0} 대장균 MV1184주에 도입하면 nick 부분이 연결되어 kanamycin을 함유한 배지에 배양했을 때 amber 변이를 갖지 않는 부위 특이적 변이가 도입된 형질 전환체를 얻을 수 있다. 이러한 LA PCR → 형질전환으로 단 하루만에 변이도입 조작이 완료된다.



ODA-LA PCR법의 원리

Aureobasidin A 내성 효모 형질전환 시스템

■개요

Aureobasidin A 내성 효모 형질전환 시스템은 항진균성 항생물질 Aureobasidin A (AbA)와 Aureobasidin A 내성유전자를 선택 마커로 하는 vector를 이용한 효모 또는 일부의 *Aspergillus*속 사상균을 위한 형질전환 시스템이다. AbA 내성 유전자는 우성이므로 하나 또는 몇 copy의 plasmid를 갖는 것만으로도 형질전환체는 Aureobasidin A 내성이 된다. 또 영양 요구성 변이를 갖지 않는 야생형 효모나 실용효모 (1배체, 다배체)를 숙주로 하였을 때도 높은 효율로 형질전환체를 얻을 수 있다.

■특징

- 영양요구성 변이를 갖지 않는 야생형 효모나 실용효모 (술효모, 빵효모 등)도 높은 효율로 형질전환 할 수 있다.
- 선택 배지는 완전배지 (YPD 등)에 Aureobasidin A만 첨가된 것으로, 복잡한 영양요구성 아미노산 첨가가 필요하지 않아, 대장균의 경우 ampicillin 첨가 배지에 의한 선택과 같이 형질전환체를 스크리닝할 수 있다.
- *S. cerevisiae* (pAUR101, pAUR112, pAUR123, pAUR135) 또는 *Schizo. pombe* (pAUR224) 또는 *A. nidulans* (pAUR316)로의 형질전환 효율은 영양요구성 선택 마커를 이용한 경우와 같은 정도이다 (효모 : lithium acetate법으로 $1\sim5\times10^4$ 형질전환체/㎍ DNA, 사상균: protoplast-PEG법으로 $10^2\sim10^3$ 형질전환체/㎍ DNA).

[주의]

1) 본 제품은 연구용 이외의 목적에는 사용할 수 없습니다. 특히 사람이나 동물의 의료, 임상진단에는 사용하지 마십시오. 또 식품, 화장품, 가정용품 등으로 사용할 수 없습니다.
2) 본 제품을 연구목적 이외에 사용하는 경우는 사전에 당사로 문의하여 주십시요.

〈Aureobasidin A 내성 형질전환 시스템의 개요〉

형질전환 숙주	AbA 내성 유전자	대장균 · 효모 Shuttle vector	Vector의 특징
*Saccharomyces cerevisiae**	*AUR1-C*	pAUR101	염색체 삽입형 vector
		pAUR112	Plasmid 상태로 자율복제 가능한 vector
		pAUR123	단백질 발현용 plasmid vector
		pAUR135	마커 제거형 plasmid
Schizosaccharomyces pombe	*aur* 1^r	pAUR224	*Schizo. pombe*용 발현 vector
Aspergillus nidulans	*aur* A^r	pAUR316	Plasmid 상태로 자율복제 가능한 vector

* Aureobasidin A 내성 형질전환 시스템은 *S. cerevisiae* 주 전반에 사용할 수 있는 형질전환계로서 개발되었으나 *S. cerevisiae* 뿐만 아니라 분류학상 *S. cerevisiae*의 근연종으로 생각되는 *Kluyveromyces marxianus*와 *K. lactis, Candida glabrata* 등의 형질전환 시스템으로도 유용하다.

▶ Aureobasidin A 내성 효모 형질전환 시스템의 원리

Aureobasidin A는 흑색효모 *Aureobasidium pullulans* No. R106 주가 생산하는 항진균성 항생물질이다.
S. cerevisiae, Schizo pombe, C. albicans 등의 *Candida*속, 일부의 *Aspergillus*속에 대하여 강한 항균활성을 갖고 있어 청주효모, 빵 효모 등의 실용효모에도 저농도 (0.1~0.4 ㎍/㎖)에서 항균효과를 나타낸다.
AUR1-C 유전자는 다카라바이오가 *S. cerevisiae*로부터 얻은 AbA 내성 유전자로 야생형의 대립 유전자가 Aur1 유전자 (제 11염색체 YKL004W) 의 2곳의 아미노산을 유전자 조작으로 치환한 변이 유전자이다. 이 변이도입으로 AUR1-C 유전자는 AbA에 대하여 특이적인 내성을 갖는다. 같은 방법으로 aur1r 유전자는 *Schizo. pombe*로부터, aurAr 유전자는 *A. nidulans*에서 각각 얻어낸 AbA 내성 유전자 이다. 이들 AbA 내성 유전자는 우성적으로 작용하기 때문에 세포내에 1 copy가 존재하는 것만으로 내성형질을 발현하고 또 copy 수에 따라 AbA 내성도가 상승한다. AUR1-C를 선택 마커로 함유한 plasmid로 형질전환하는 경우 형질전환체는 AbA 내성 클론으로서 얻을 수 있다.
또한 최근 Nagiec 등에 의하여 Aureobasidin A의 작용기작이 밝혀졌다. Aureobasidin A는 진균의 sphingolipid 생합성계의 효소인 inositol-phosphorylceramide (IPC) synthase의 저해제이며, aur1 유전자는 IPC synthase를 코드하는 것으로 알려져 있다.

항진균성 항생물질

Aureobasidin A

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Aureobasidin A	TKR	9000	10 mg	559,000원
Aureobasidin A	TKR	9000B (Ax5)	10 mg×5	2,515,000원

■ 형상 동결건조품

■ 보존 실온 건조보존 (용해 후는 4℃)

■ 규격

분자량	1,100
융 점	155~157℃

■ 기원

Aureobasidium pullulans No. R106

■ 품질

HPLC 분석으로 95% 이상의 Aureobasidin A를 확인하고 있다.

■ 제품설명

Aureobasidium pullulans No. R106 주에서 분리한 분자량 1,100의 환상 (Depsipeptide) 항생물질이다.
Saccharomyces cerevisiae, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida albicans*, *Kluyveromyces lactis*, 일부 *Aspergillus* 등 진균류에 대해서 저농도 (0.1~0.5 ㎍/㎖)에서 살균작용을 나타낸다.

■ 사용법

Ethanol 또는 methanol에 0.5~5.0 mg/㎖ 의 농도로 용해하여 보존한다 (물에 잘 녹지 않음).

염색체 도입형 효모 shuttle vector

pAUR101 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pAUR101 DNA	TKR	3600	20 ㎍	409,000원

■ 제품설명

본 제품은 *Saccharomyces cerevisiae*의 염색체 삽입형 효모 shuttle vector이다. pAUR101은 Aureobasidin A (AbA) 내성유전자 *AUR1-C*를 선택 마커로 하는 vector로 형질전환체는 AbA 내성이다. 클로닝 사이트로 7종류의 제한효소 절단부위 (*Sac* I, *Kpn* I, *Sma* I, *Xba* I, *Sal* I, *Sse*8387 I, *Sph* I)를 갖는다. Vector는 효모 내에서는 자율적으로 복제되지 않고 염색체에 도입된 상태에서만 안정적으로 보유 · 유지된다. AUR1-C 유전자 내의 제한효소 부위 (*Bst* P I, *Eco*O65 I, *Bsl*W I, *Stu* I) 중 한군데 절단하여 선형화된 plasmid로 형질전환함으로써 높은 효율로 효모염색체 (*aur*1 유전자 부위)에 도입된다.

■ 길이 6,687 bp

■ 농도 1 ㎎/㎖

■ 보존 - 20 ℃

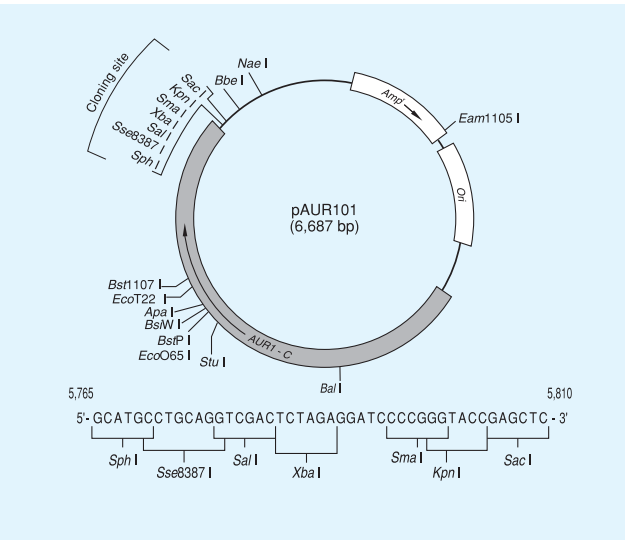
■ GenBank Accession No. AB012282

■ 용도

항생물질 Aureobasidin A를 이용한 효모의 형질전환을 위한 vector (염색체 도입형 shuttle vector)

■ License Notice : [M11]

■ pAUR101 DNA 의 구조



AUR1-C *S. cerevisiae* 의 AbA 내성 유전자
Amp^r *E. coli* 에서 선택 마커
Ori *E. coli* 에서의 복제 기점 (pUC119 유래)

pAUR112 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pAUR112 DNA	TKR	3601	20 μg	389,000원

■ 제품설명

pAUR112 DNA는 *Saccharomyces cerevisiae*에서 plasmid 상태로 안정적으로 유지되는 효모 shuttle vector이다. 본 vector는 대장균에서의 선택 마커로 ampicillin 내성 유전자 *Amp*^{r}를, *S. cerevisiae*에서의 선택 마커로 AureobasidinA (ABA) 내성유전자 *AUR1-C*와 *URA3*을 가지며 안정적인 자율복제를 위해 CEN/ARS 서열로 포함하고 있다. 클로닝 사이트로 *Xho* I, *Sal* I, *Xba* I, *Sma* I, *Sac* I, *Kpn* I의 6종류의 제한효소 절단부위를 사용할 수 있다.

■ 길이 7,104 bp

■ 농도 1 ㎎/㎖

■ 보존 - 20℃

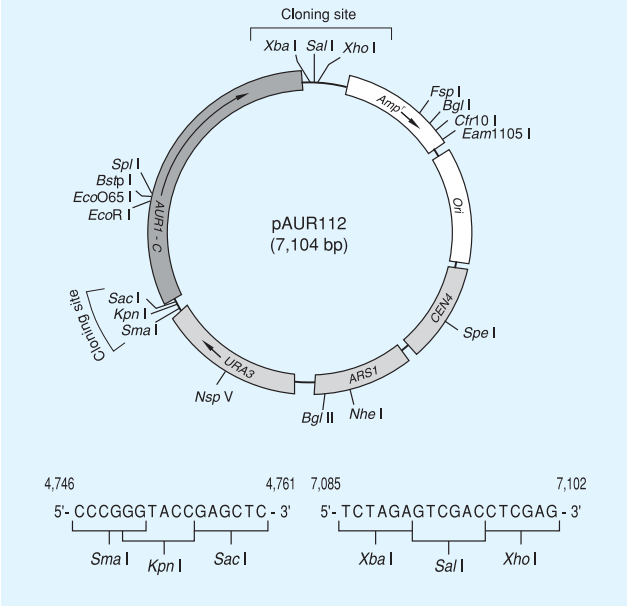
■ GenBank Accession No. AB012283

■ 용도

항생물질 Aureobasidin A를 이용한 효모의 형질전환을 위한 vector
효모 내에서 plasmid 상태로 보유・유지된다.

■ License Notice : [M11]

■ pAUR112 DNA 의 구조



AUR1-C *S. cerevisiae* 의 AbA 내성 유전자
URA3 *S. cerevisiae* 의 Uracil 선택 마커
ARS *S. cerevisiae* 복제 기점
CEN *S. cerevisiae* 의 centromere
Amp^r *E. coli* 에서의 선택 마커
Ori *E. coli* 에서의 복제 기점 (pBR322 유래)

pAUR123 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pAUR123 DNA	TKR	3602	20 μg	389,000원

■ 제품설명

본 제품은 자율 복제형 vector pAUR112 유래의 단백질 발현용 plasmid vector로서 *Saccharomyces cerevisiae* 내에서 plasmid 상태로 안정하게 유지할 수 있는 효모 shuttle vector이다. 발현용 promoter로서 구성적으로 발현하는 alcohol dehydrogenase I 유전자 (*ADH1*)의 promoter를 함유하고 있다. 본 vector는 대장균의 선택 마커로 ampicillin 내성유전자를, 또 *S. cerevisiae*의 선택 마커로 Aurobasidin A (AbA) 내성 유전자 *AUR1-C*를 갖고 있으며 안정적인 자율복제에 필요한 *CEN/ARS* 서열을 가지고 있다. 발현하고자 하는 유전자를 개시 codon ATG를 함유한 형태로 cloning site에 삽입함으로써 효모 내에서 구성적으로 발현할 수 있다. 또 cloning site에는 reading frame을 shift시킨 3개의 stop codon이 들어 있다.

■ 길이 6,982 bp

■ 농도 1 ㎎/㎖

■ 보존 - 20℃

■ GenBank Accession No. AB012284

■ 용도

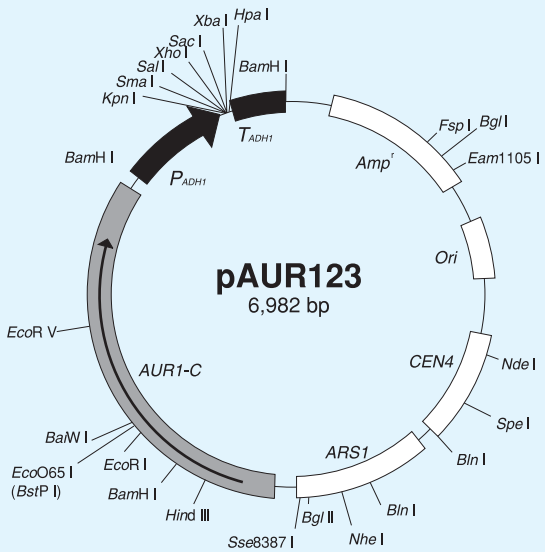
항생물질 Aureobasidin A를 이용한 효모의 형질전환용 vector (단백질 발현형 shuttle vector). 효모 내에서 plasmid 상태로 보유・유지된다.

■ 사용상의 주의

본 vector에 사용하는 *Aph1* promoter는 고발현 형태의 promoter가 아니므로 목적 단백질의 고발현은 기대할 수 없다.

■ License Notice : [M11]

■ pAUR123 DNA 의 구조



AUR1-C	*S. cerevisiae*의 AbA 내성 유전자
PADH1	*S. cerevisiae*의 *ADH1* 유전자의 promoter
TADH1	*S. cerevisiae*의 *ADH1* 유전자의 terminator
ARS	*S. cerevisiae*의 복제 기점
CEN	*S. cerevisiae*의 centromere
Amp^r	*E. coli*에서의 선택 마커
Ori	*E. coli*에서의 복제 기점 (pBR322 유래)

pAUR224 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pAUR224 DNA	TKR	3603	20 μg	389,000원

■ 제품설명

본 제품은 *Schizosaccharomyces pombe* 유래의 변이유전자 *aur1*^{r}을 효모형 질전환을 위한 선택 마커로 사용하고 있다. 이 vector로 *Schizo. pombe*를 형질전환했을 때 형질전환체는 항생물질 Aureobasidin A (AbA)에 대한 내성형질을 나타낸다.

pAUR224는 plasmid 상태로 보유・유지할 수 있는 vector이다. 발현용 promoter에는 *Schizo. pombe* 내에서 구성적으로 발현하는 cytomegalovirus (CMV)의 promoter가 들어 있다. 또, M13 phage DNA의 IG를 갖기 때문에 helper phage M13KO7의 감염에 의해 *E. coli* 로부터 dsDNA를 ssDNA로서 회수할 수 있다.

■ 길이 7,638 bp

■ 농도 0.5~1.0 mg/ml

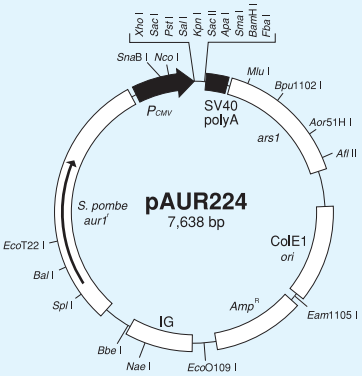
■ 보존 -20℃

■ 용도

항생물질 Aureobasidin A를 이용한 효모 *Schizo. pombe*의 형질전환용 vector (단백질 발현용 shuttle vector)

■ License Notice : [M11]

■ pAUR224 DNA의 구조



aur1^{r}	*Schizo. pombe*의 AbA 내성 유전자
ars1	*Schizo. pombe*의 복제 기점
PCMV	CMV promoter
SV40 poly A	SV40 유래의 Poly(A) Signal
Amp^{r}	*E. coli* 에서의 선택 마커
ori	*E. coli* 에서의 복제 기점
IG	M13 Phage의 Intergenic region

■ pAUR224 cloning site

CTCGAGCTCAAGCTTCGAATTCTGCAGTCGACGGTACCGCGGGCCCGGGATCCACCGGATCTAGATAACTGATCA

Xho I, *Sac* I, *Pst* I, *Sal* I, *Kpn* I, *Sac* II, *Apa* I, *Sma* I, *Bam*H I, *Fba* I

pAUR135 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pAUR135 DNA	TKR	3604	20 ㎍	409,000원

■ 제품설명

본 제품은 출아효모 *Saccharomyces cerevisiae*의 형질전환체로부터 선택 마커인 *AUR1-C* 를 함유하는 불필요한 서열을 제거하기 위한 DNA 서열을 갖고 있어 간단한 방법으로 마커 제거 클론을 우선적으로 선별할 수 있도록 구축한 shuttle vector이다.

pAUR135에는 형질전환체 선택 마커로서 *AUR1-C* 유전자와 마커 제거주 선별용의 GAL10 promoter에 연결한 GIN11M86 서열이 포함되어 있다.

AUR1-C 는 실험실 효모, 야생형 효모, 실용형 효모 구분없이 *S. cerevisiae*에 AbA 내성을 부여하는 유전자이다. GIN11M86은 다량 발현하면 생육저해를 일으킨다.

pAUR135에 의한 형질전환으로 얻어진 AbA 내성 형질전환체를 galactose 배지로 옮기면 GAL10 promoter가 활성화되어 GIN11M86이 다량 발현한다. 이때 GIN11M86을 함유하는 거의 모든 형질전환체가 생육저해를 일으키나 아주 낮은 빈도로 homologous recombination에 의하여 생긴 *AUR1-C* 마커 영역이 제거된 주만이 우선적으로 생육하게 된다. 여기에는 AbA 감수성의 목적의 형질전환체와 원래로 복귀한 주가 포함되어 있다. 따라서 pAUR135는 재형질전환에 사용할 수 있다. 또 *AUR1-C* 마커 뿐만 아니라 vector 서열도 제거되므로 실용효모의 육종에 있어서 불필요한 서열이 남는 불안을 줄일 수 있다. pAUR135는 변이도입이나 유전자 기능의 파괴 등에 사용할 수 있다.

■ 길이 6,074 bp

■ 농도 0.5 ㎎/㎖

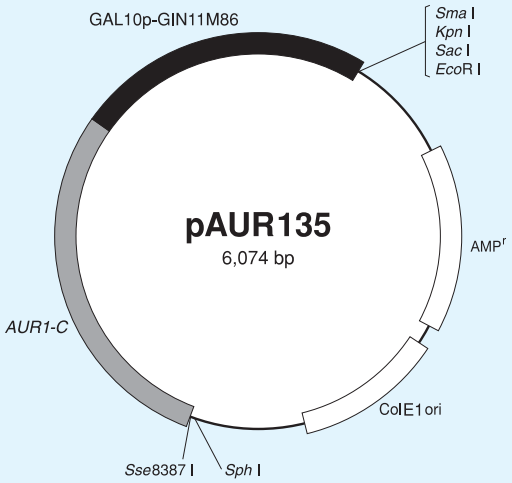
■ 보존 - 20℃

■ 용도

항생물질 Aureobasidin A를 이용한 효모의 형질전환과 마커 제거용 vector

■ License Notice : [M11]

■ pAUR135 DNA 의 구조



〈pAVR135를 절단하지 않는 제한효소(당사 제품)〉

Acc III, *Afl* II, *Aor*51H I, *Bal* I, *Bgl* II, *Bln* I, BspT104 I, *Bpu*1102 I, *Bss*H II, *Bst*X I, *Cla* I, *Cpo* I, *Eco*52 I, *Eco*81 I, *Fba* I, *Hind* III, *Mlu* I, *Nae* I, *Not* I, *Nru* I, *Pma*C I, *Psh*A I, *Sac* II, *Sal* I, *Sfi* I, *Sna*B I, *Spe* I, *Tth*111 I, *Van*91 I, *Xba* I, *Xho* I

AUR1-C^r	*S. cerevisiae* AbA 내성 유전자
GAL10p-GIN11M86	Galactose 유도성 생육저해 DNA 서열
Amp ^{r}	*E. coli* 에서의 선택 마커
Col E1 ori	*E. coli* 에서의 복제 기점

pAUR316 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pAUR316 DNA	TKR	3605	20 ㎍	409,000원

■ 제품설명

본 제품은 *Aspergillus nidulans*내에 plasmid 상태로 유지할 수 있는 *Aspergillus*속 shuttle vector이다. 대장균에서는 선택 마커로서 ampicillin 내성 유전자 *Amp*^{r}를 *A. nidulans*의 선택 마커인 AbA 내성 유전자 *aurA*^{r}을 갖고 있으며, 자율복제를 위하여 AMA1 서열을 갖고 있다. 클로닝 사이트로서 *Bam*H I, *Aor*51H I, *Afl* II, *Bgl* II, *Sse*8387 I의 5종류의 제한효소 인식부위를 이용할 수 있다.

■ 길이 11,663 bp

■ 농도 0.5 ㎎/㎖

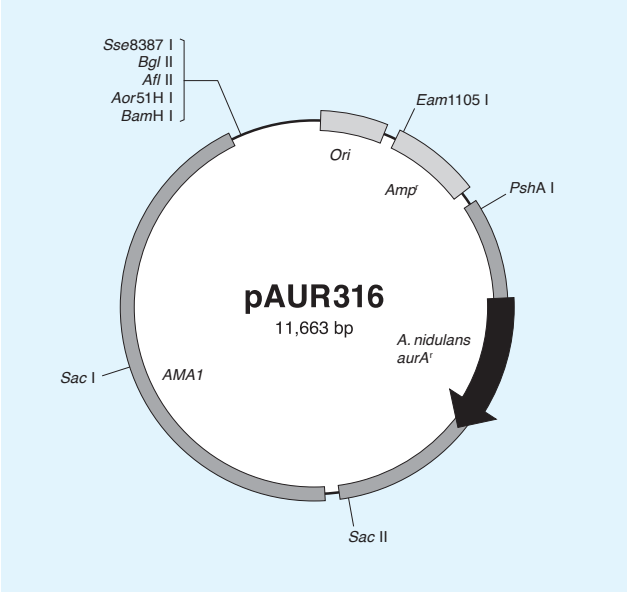
■ 보존 - 20 ℃

■ 용도

- 항생물질 Aureobasidin A를 이용한 *Aspergillus*의 형질전환용 vector
- 본 vector는 *Aspergillus* 내에서 plasmid 상태로 유지된다.

■ License Notice : [M12]

■ pAUR316 DNA의 구조



aurA^r	*A. nidulans*의 AbA 내성 유전자
Amp^r	*E. coli* 에서의 선택적 마커
ori	*E. coli* 에서의 복제 기점
AMA1	*A. nidulans*에서의 복제 기점

Pyrithiamine 내성 형질전환 시스템

■ 개요

Pyrithiamine 내성 형질전환 시스템은 thiamine analog인 Pyrithiamine (PT)과 그 내성유전자를 선택 마커로 하는 vector를 조합한 형질전환 시스템이다. 약제 내성형질에 의해 선택하므로 영양 요구성 마커를 필요로 하지 않으며, PT에 감수성을 보이는 야생주의 국균 *Aspergillus oryzae* 를 비롯한 *A. niger, A. terreus, A. fumigatus* 등 *Aspergillus* 속 진균에 폭넓게 이용할 수 있다. *A. oryzae*의 경우, 최종농도 0.1 ㎍/㎖ 로 선택할 수 있다.

염색체 재조합형 shuttle vector

pPTR I DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pPTR I DNA	TKR	3621	20 ㎍	409,000원

■ 제품설명

본 제품은 *Aspergillus*속 진균용 염색체 재조합 shuttle vector이다. 본 vector는 *Aspergillus* 내에서는 자율적으로 복제하지 않고 염색체에 삽입된 상태에서만 안정적으로 유지된다. 대장균 선택 마커로서 ampicillin 내성 유전자를, *Aspergillus* 선택 마커로서 Pyrithiamine 내성 유전자 (*ptrA*)를 포함하고 있다. Site로서 *Hin*d III, *Pst* I, *Sma* I, *Kpn* I 네 종류의 제한효소 절단부위를 사용할 수 있다. 또 *lacZ* 영역에 cloning site가 있으며, IPTG와 X-Gal을 포함하는 배지에서 외래 DNA 도입 유무를 쉽게 판별할 수 있다.

■ 길이 4,782 bp

■ 보존 - 20℃

■ 용도

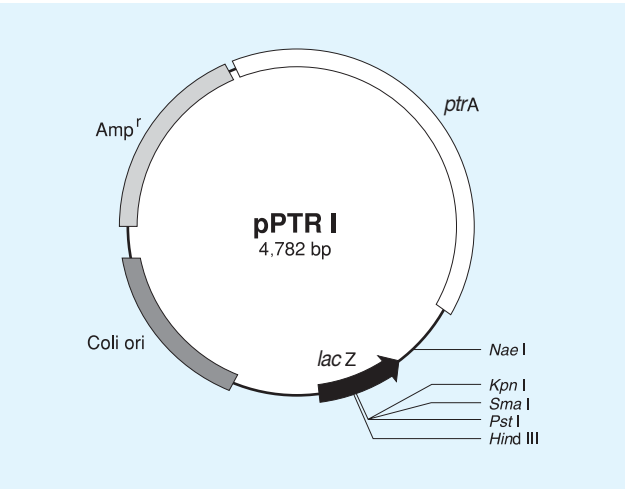
Thiamine 대사 길항 analog인 Pyrithiamine를 이용한 *Aspergillus* 속 사상균 형질전환을 위한 vector.

■ 사용상의 주의

Thiamine 존재하에서는 Pyrithiamine의 selection efficiency가 격감하므로 본 vector를 이용하는 형질전환시 반드시 thiamine을 포함하지 않는 배지, 시약을 사용한다.

■ License Notice : [L35]

■ pPTR I DNA의 구조



ptrA *A. oryzae*의 Pyrithiamine 내성 유전자
lacZ *E. coli* 의 β -galactosidase 유전자
*Amp*r *E. coli* 의 선택 마커
Coli *ori* *E. coli* 의 복제 기점

자율 복제형 shuttle vector

pPTR II DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pPTR II DNA	TKR	3622	20 ㎍	409,000원

■ 제품설명

본 제품은 *Aspergillus* 속 진균내 plasmid 상태로 존재하는 자율복제형 vector이다. 대장균에서의 선택 마커로 ampicillin 내성유전자 *Amp*^{r}을, *Aspergillus* 의 선택 마커로 Pyrithiamine 내성유전자 *ptrA*를 가지며 *Aspergillus* 내 자율복제를 위하여 *A. nidulans*의 AMA 1서열을 포함하고 있다. Cloning site로 *Hind* III, *Sma* I, *Kpn* I 세 종류의 제한효소 절단부위를 사용할 수 있다. 또 *lacZ* 영역에 cloning site가 있으며, IPTG와 X-Gal을 포함하는 plate에서 외래 DNA 도입 유무를 쉽게 판별할 수 있다.

■ 길이 10,032 bp

■ 보존 - 20℃

■ 용도

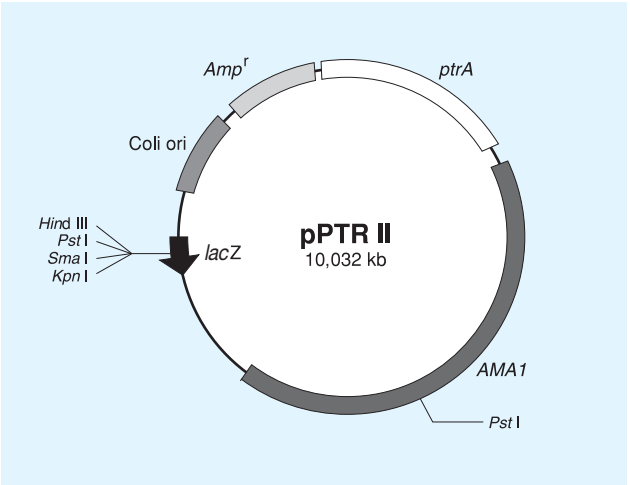
Thiamine의 대사의 anti-analog인 Pyrithiamine를 이용한 *Aspergillus* 속 사상균 형질전환을 위한 vector이다.
본 vecter는 *Aspergillus* 내에서 plasmid 상태로 유지된다.

■ 주의

Thiamine 존재하에서는 Pyrithiamine의 selection efficiency가 격감하므로 본 vector를 이용하는 형질전환시 반드시 thiamine을 포함하지 않는 배지, 시약을 사용한다.

■ License Notice : [L35]

■ pPTR II DNA의 구조



ptrA	*A. oryzae*의 Pyrithiamine 내성유전자
AMA 1	*A. nidulans*의 복제 기점
lacZ	*E. coli* 의 β -galactosidase 유전자
Amp^r	*E. coli* 의 선택 마커
Coli *ori*	*E. coli* 의 복제 기점

효모 형질전환 Kit

Fast Yeast Transformation Kit™

제품명	제조사	제조사 Code	TaKaRa Code	용량	가격
Fast Yeast Transformation Kit	GNO	GZ-01	GA005	1 Kit	371,000원

■ 내용 (형질전환 120 회)

Wash Solution	60 ㎖
Competent Solution	6 ㎖
Transformation Solution	60 ㎖

■ 보존 4 ℃

■ 제품설명

본 제품은 신속하고 간단하게, 한번의 과정으로 효모 competent cell을 조제할 수 있는 kit이다. 조제된 competent cell은 즉시 형질전환에 사용할 수 있다. 또한 조제한 competent cell은 -70℃ 이하에서 보존할 수 있으며, 본 제품 1 kit로 효모 competent cell을 6회 조제할 수 있다 (형질전환 120 회분).

■ 특징

- 형질전환 효율이 높아, 〈1 ㎍ circular plasmid DNA 당 약 10^5~10^6의 형질전환체를 얻을 수 있다.
- 적용범위가 넓어 *S. cerevisiae, S. pombe, C. albicans, Pichia pastoris*에 사용할 수 있다.
- 약 1시간에 형질전환이 가능하다.

pUC18/19 형 vector

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pUC18 DNA	TKR	3218	25 μg(0.5 OD)	90,000원
pUC19 DNA	TKR	3219	25 μg(0.5 OD)	90,000원
pHSG298 DNA	TKR	3298	25 μg(0.5 OD)	90,000원
pHSG299 DNA	TKR	3299	25 μg(0.5 OD)	90,000원
pHSG396 DNA	TKR	3396	25 μg(0.5 OD)	100,000원
pHSG398 DNA	TKR	3398	25 μg(0.5 OD)	100,000원

■ 농도 250~1,000 μg/ml

■ 보존 - 20℃

■ GenBank

	Entry Name	Accession No.
pUC18	SYNPUC18CV	L09136
pUC19	SYNPUC19CV	L09137
pHSG299	SYNHSG299	M19415*1
(pHSG399	SYNHSG399	M19087)*2

*1 pHSG298 DNA (Code 3298)는 MCS서열이외에는 pHSG299 DNA와 같다. 다만, 1,446위치의 'G'가 결손되어 있다. pHSG299 DNA (Code 3299)는 GenBank에 등록되어 있는 pHSG299서열과 아래 배열에 차이가 있다.
1663C, 2667-2668 GA→결손 1808 C→T, 2228-2229 AT→TA, 2474 G→A

*2 pHSG396 및 pHSG398은 multi-cloning site의 서열이외는 pHSG399와 동일하다.

주) GenBank에 등록되어 있는 pUC18서열은 1308번이 G이지만, 당사에서 판매중인 pUC18 vector는 1308번이 A이다.

■ DNA 길이

pUC18/pUC19	: 2,686 bp
pHSG298, pHSG299	: 2,676 bp
pHSG396	: 2,238 bp
pHSG398	: 2,227 bp

■ 제품설명

pUC18/pUC19는 dideoxy법에 의한 DNA 염기서열 결정에 적합한 plasmid vector로 ampicillin 내성을 가져 M13 phage vector에 비교하여 큰 DNA 단편을 클로닝할 수 있다. *lacZ* 영역에 multi-cloning site를 갖고 있어 IPTG와 X-gal을 함유하는 plate에서 외래 DNA의 도입 유무를 간단히 판별할 수 있다. 또 *lac* promoter를 이용한 외래 유전자의 발현도 가능하다.

DNA sequencing에는 M13 primers를 사용하는 것이 편리하다. 또 Kilo-Sequence용 Deletion Kit (Code 6030)를 사용하여 kilo-sequencing도 가능하다.

pHSG298과 pHSG299는 kanamycin 내성을, pHSG396, pHSG398은 chloramphenicol 내성을 각각의 선택 마커로 갖는 pUC type cloning vector plasmid이다.

pHSG298과 pHSG398은 pUC18과, pHSG299는 pUC19와 동일한 multi-cloning site를 갖고 있다 (단, pHSG298과 pHSG299는 *Hind* III, *Sma* I 부위를 사용할 수 없다). 또 pHSG396은 pHSG398과 다른 multi-cloning site를 가지고 있다.

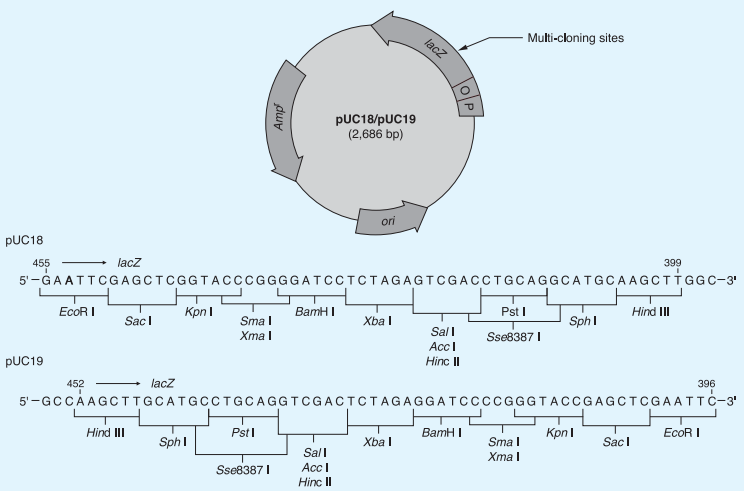
■ 용도

- 외래 유전자의 α-상보성을 이용한 클로닝과 *lac* promoter를 이용한 유전자 발현
- M13 primers를 이용한 DNA 염기서열 결정
- Kilo-Sequence용 Deletion Kit (Code 6030)를 이용한 긴 단편의 염기서열 결정

■ 사용상의 주의

pHSG298과 pHSG299의 *Stu* I 인식서열은 *Stu* I 으로 절단할 수 없다. 서열에는 문제가 없기 때문에 구조상의 문제로 생각된다.

■ pUC18/ pUC19 DNA의 구조



pUC118/119 형 vector

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pUC118 DNA	TKR	3318	25 μg(0.5 OD)	90,000원
pUC119 DNA	TKR	3319	25 μg(0.5 OD)	90,000원
pUC118 *Eco*R I/ BAP	TKR	3320	5 μg(0.1 OD)	100,000원
pUC118 *Bam*H I/ BAP	TKR	3321	5 μg(0.1 OD)	100,000원
pUC118 *Hinc* II/ BAP	TKR	3322	5 μg(0.1 OD)	100,000원
pUC118 *Pst* I/ BAP	TKR	3323	5 μg(0.1 OD)	100,000원
pUC118 *Hind* III/ BAP	TKR	3324	5 μg(0.1 OD)	100,000원
pTV118N DNA	TKR	3328	25 μg(0.5 OD)	100,000원

■ 농도

pUC118, pUC119, pTV118N : 250~1,000 μg/ml
pUC118 BAP처리 DNA : 50~250 μg/ml

■ 보존 - 20℃

■ GenBank

	Entry Name	Accession No.
pUC118	CVU07649	U07649
pUC119	CVU07650	U07650

주) GenBank에 등록되어 있는 pUC118 의 서열은 2540번이 C이지만, 당사에서 판매하는 pUC118 vector는 2540번이 T이다. 또한 GenBank에 등록된 pUC119의 서열은 597번, 852번, 901번 및 2540번이 C이지만, 당사에서 판매하는 vector는 이들 자리가 모두 T 이다.

■ DNA 길이 (Messing의 구축법으로 계산)

pUC118/pUC119 : 3,162 bp
pTV118N : 3,163 bp

■ 제품설명

pUC118/pUC119 vector는 pUC18/pUC19 내에 M13 phage DNA의 intergenic region (IG)을 삽입한 plasmid이다. Helper phage M13KO7의 감염에 의해 pUC118/pUC119는 ssDNA가 되어 우선적으로 phage 입자 내에 packaging되어 균체 밖으로 방출된다. 이 시스템을 사용하여 커다란 DNA 단편도 deletion 없이 안정하게 ssDNA를 얻을 수 있다.
또한, pUC118은 pUC18과, pUC119는 pUC19와 각각 동일한 cloning site를 가지고 있어 IPTG와 X-Gal을 포함하는 plate에서 외래 DNA의 도입 유무를 용이하게 판별할 수 있다.

제한효소 절단 및 BAP 처리한 pUC118은 multi-cloning site의 한 곳만을 절단하고 비교적 사용빈도가 높은 제한효소를 사용하여 pUC118을 절단한 후 대장균 유래의 alkaline phosphatase (BAP)로 탈인산화한 클로닝 벡터이다. 벡터만의 self-ligation을 방지하여 형질전환 세포의 blank 수치를 낮출 수 있다. pTV118N은 외래 유전자를 직접 발현할 수 있도록 pUC118를 변형시킨 ssDNA 제조용 phagemid vector이다. *lacZ*α 의 개시 codon (ATG) 위치에 *Nco* I 절단서열 (CCATGG)이 도입되어 있다. 이 *Nco* I 부위에 외래 유전자를 삽입하여 번역 frame을 맞추면 *lac* promoter, *lacZ*의 SD서열과 그 개시 코돈을 사용하여 외래 유전자를 유도 발현할 수 있다. SD서열과 개시 코돈간의 염기수는 번역 개시 효율이 높다고 보고된 8 염기로 설계되어 있으며, 번역 frame 을 맞추어 외래 유전자를 클로닝하기 위한 3 종류의 *Nco* I linker를 별도 판매하고 있다.
또한, helper phage를 이용하여 ssDNA를 회수하여 RV-N primer로 염기서열을 결정할 수 있으므로 개시 코돈쪽에서부터 번역 frame을 확인하기 쉽다.

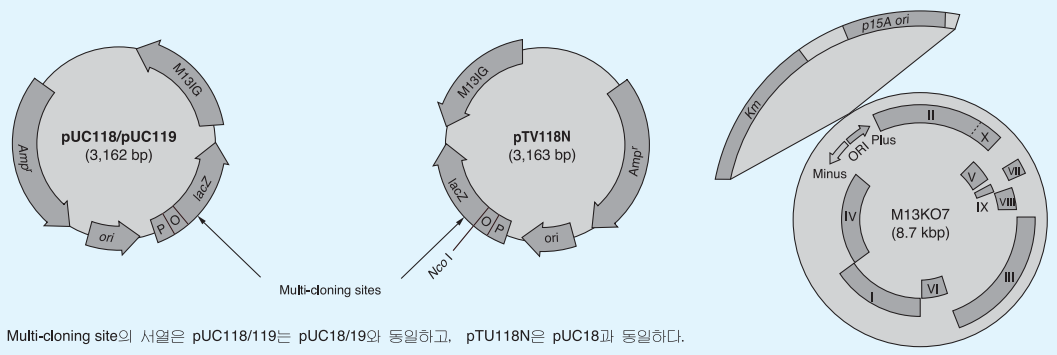
■ 용도

- 외래 유전자의 클로닝과 *lac* promoter를 이용한 유전자 발현
- M13 primers를 이용한 DNA 염기서열 결정
- Kilo-Sequence용 Deletion Kit (Code 6030)를 이용한 긴 단편의 염기서열 결정

■ 사용상의 주의

pTV118N은 *lacZ* 영역에 대한 M13IG 영역의 방향이 pUC118의 역방향이므로 M13 forward primer를 사용하여 한가닥 DNA의 염기서열을 결정할 수 없다.

■ pUC118/pUC119와 pTV118N의 구조



Multi-cloning site의 서열은 pUC118/119는 pUC18/19와 동일하고, pTU118N은 pUC18과 동일하다.

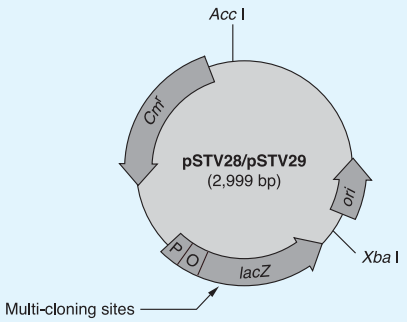
pSTV28/29 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pSTV28 DNA	TKR	3331	25 ㎍(0.5 OD)	100,000원
pSTV29 DNA	TKR	3332	25 ㎍(0.5 OD)	100,000원

■ 농도 250~1,000 ㎍/㎖

■ 보존 - 20℃

■ pSTV28/pSTV29의 구조



Multi-cloning site의 서열은 pUC18/19와 동일.

* pUC18/19 vector는 D-24 페이지 참조

■ DNA 길이 pSTV28/29 : 2,999 bp

■ 제품설명

pSTV28/29는 pACYC184의 복제기점, Tn9의 chloramphenicol 내성 유전자와 pUC18/19의 multi-cloning site를 갖고 있는 (단, *Xba* I, *Acc* I 부위는 사용할 수 없다), β-galactosidase 유전자로부터 재구축한 plasmid vector이다. pUC계에 비교하여 copy 수가 적으므로 다량으로 발현했을 경우 숙주에 유해한 유전자를 cloning하는데 유효하다. 또 pACYC의 복제 기점을 갖고 있기 때문에 pUC, pBR 등의 plasmid vector와 동일한 균체 내에 공존할 수 있다.

■ 용도

- 외래 유전자의 α-상보성을 이용한 클로닝과 *lac* promoter를 이용한 유전자 발현
- M13 primers를 사용한 DNA 염기서열 결정
- Kilo-Sequence용 Deletion Kit (Code 6030)를 사용한 긴 DNA 단편의 염기서열 결정

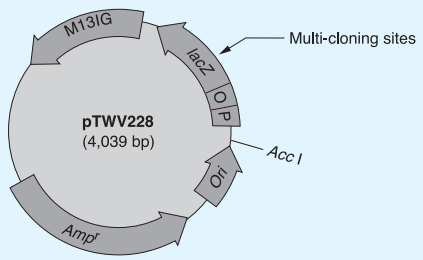
pTWV228 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pTWV228 DNA	TKR	3333	25 ㎍(0.5 OD)	100,000원

■ 농도 250~1,000 ㎍/㎖

■ 보존 - 20℃

■ pTWV228 DNA의 구조



Multi-cloning site의 서열은 pUC118와 동일.

■ DNA 길이 pTWV228 : 4,039 bp

■ 제품설명

pTWV228는 pBR322의 복제기점과 pUC118의 ampicillin 내성 유전자 IG (M13 phage DNA의 intergenic region)와 multi-cloning site를 갖고 있다 (단, Acc I 부위는 사용할 수 없다). β-galactosidase 유전자로 재구축한 plasmid vector이다. pUC계에 비교하여 copy 수가 적으므로 다량으로 발현했을 경우 숙주에 유해한 유전자를 클로닝하는데 유효하다. 또한, M13 phage DNA의 IG를 갖고 있기 때문에 helper phage M13KO7의 감염에 의해 dsDNA를 ssDNA로 회수할 수 있다.

■ 용도

- 외래 유전자의 α-상보성을 이용한 클로닝과 lac promoter를 이용한 유전자 발현
- M13 primers를 사용한 DNA 염기서열 결정
- Kilo-Sequence용 Deletion Kit (Code 6030)를 사용한 긴 DNA 단편의 염기서열 결정

pKF3 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pKF3 DNA	TKR	3100	10 ㎍(0.2 OD)	100,000원

■ 농도 500 ㎍/㎖

■ 보존 -20℃

■ GenBank

Entry Name	Accession No
ECORPS12B	D14641

■ DNA 길이 2,246 bp

■ 제품설명

pKF3 vector는 chloramphenicol 내성 유전자와 *trp* promoter의 downstream에 치사유전자 *rpsL* (streptomycin-sensitive ribosomal protein)을 갖는 Enforcement cloning vector이다. *rpsL* 유전자에는 amber 변이와 39종류의 제한효소 절단부위를 갖는 multi-cloning site가 설계되어 그 부위에 외래 유전자가 삽입되면 정상의 *rpsL*이 발현되지 않는다. 따라서 *E. coli* TH2 (*trpR*624, *rpsL*20, *supE*44)를 사용함으로써 외래 유전자가 삽입되어 있지 않은 클론은 streptomycin을 함유하는 배지에서는 생육이 저해되고 목적 외래 유전자를 가지고 있는 클론만이 생존하므로 간편히 클론을 선별할 수 있다.

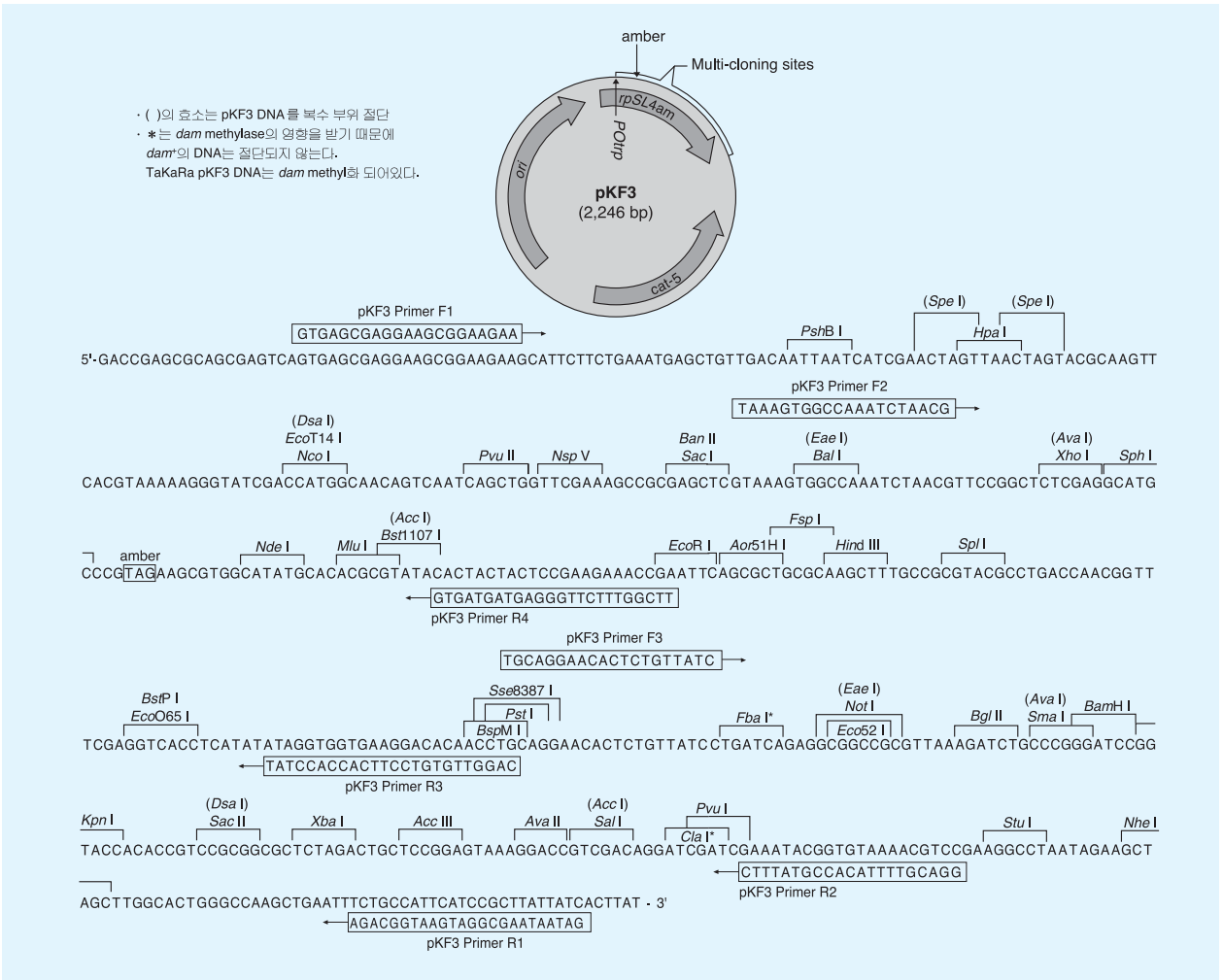
■ 용도

- Enforcement Cloning System pKF3를 이용한 외래 유전자 클로닝과 *trp* promoter를 이용한 유전자 발현
- pKF3 primers를 사용한 DNA 염기서열 결정

■ 관련제품

Enforcement Cloning System pKF3 (Code 6086)
E. coli TH2 Competent Cells (Code 9056)

■ pKF3의 구조



pKF18k-2/19k-2 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pKF18k-2 DNA	TKR	3101	10 ㎍(0.2 OD)	100,000원
pKF19k-2 DNA	TKR	3102	10 ㎍(0.2 OD)	100,000원

■ 농도 250~1,000 ㎍/㎖

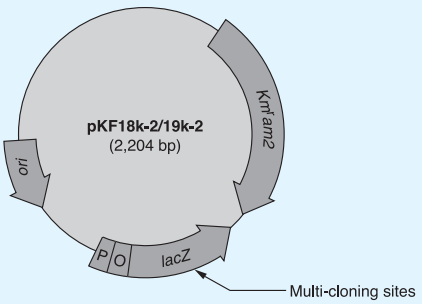
■ 보존 - 20 ℃

■ GenBank

	Entry Name	Accession No.
pKF18k	SYNAPG3G	D63846
pKF19k	SYNAPG3H	D63847

주) GenBank에 등록된 pKF18k 및 pKF19k의 서열은 *Nde* I 부위 앞에 C가 결실된 2,203 bp 이지만, 당사에서 판매되고 있는 것은 *Nde* I 앞의 C가 포함된 2,204 bp이다.

■ pKF18k-2/19k-2의 구조



Multi-cloning site의 서열은 pUC18/19와 동일.

* pUC18/19 vector는 D-26 페이지 참조

■ DNA 길이 pKF18k-2, pKF19k-2: 2,204 bp

■ 제품설명

pKF18k-2/19k-2는 kanamycin 내성 유전자에 double-amber 변이를 갖는 pUC계 vector로서 본 vector로 형질전환한 경우, JM109 등 *supE* 주에서는 kanamycin을 포함하는 plate 상에서 증식 가능하나, MV1184 등의 *sup*^{0} 주에서는 증식하지 않는다. 이 성질을 이용하여 Oligonucleotide-directed Dual Amber (ODA)법 Site-directed Mutagenesis에 이용할 수 있다. 또, JM109 등의 supE를 숙주로 하면 통상의 vector와 같이 외래 유전자의 α-상보성을 이용한 클로닝이나 *lac* promoter를 이용한 유전자 발현도 가능하다. *lacZ* 유전자에는 pUC18/19와 같은 multi-cloning site를 갖고 그 개시 코돈 (ATG)의 위치에 *Nde* I 절단서열 (CATATG)을 도입하였다.

■ 용도

- ODA법을 사용한 Site-directed Mutagenesis
- 외래유전자의 α-상보성을 이용한 클로닝
- *lac* promoter를 이용한 유전자 발현
- M13 primers를 사용한 DNA 염기서열 결정

■ 관련제품

Mutan-Super Express Km (Code RR022)
Mutan-Express Km vector/Host Set, Enzyme/Oligo Set (Code 6090, 6091)

pBR322 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pBR322 DNA	TKR	3050	25 ㎍(0.5 OD)	129,000원

■ 농도 250~1,000 ㎍/㎖

■ 보존 - 20℃

■ GenBank

Entry Name	Accession No
SYNPBR322	J01749

주) GenBank에 등록된 서열은 1134염기가 C로 되어있으나, TaKaRa에서 판매되고 있는 것은 1134가 T이다.

■ DNA 길이 4,361 bp

■ 제품설명

pBR322는 오래 전부터 클로닝에 이용되어 온 plasmid vector이다. 30종류 이상의 제한효소 절단 부위를 가지고 있으며, 다수의 클로닝용 vector를 만들기 위한 기초 재료로 사용된다.

M13 mp18 Single Strand DNA (Virion DNA)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
M13 mp18 Single Strand DNA (Virion DNA)	TKR	3518	25 ㎍(0.625 OD)	129,000원
M13 mp18 RF DNA	TKR	3118	10 ㎍(0.2 OD)	129,000원

■ 보존 - 20℃

■ GenBank

	Entry Name	Accession No
M13 mp18 RF DNA	M13 MP18	X02513

■ DNA 길이 7,249 bp

■ 용도

DNA 염기서열 결정에 사용할 경우 control DNA의 주형으로 또 M13 vector를 사용하여 ssDNA를 회수하는 경우 agarose gel 전기영동에 의한 용량 판정, 분자량 마커로 사용할 수 있다.

pHY300PLK DNA

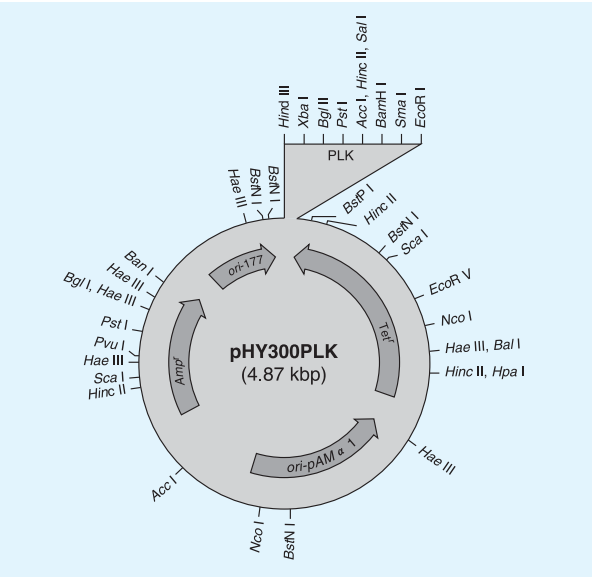
제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pHY300PLK DNA	YAK	3060	10 ㎍(0.2 OD)	327,000원

■ 농도 300~800 ㎍/㎖

■ 보존 - 20℃

*_Bacillus subtilis_ ISW 1214 주가 첨부되어 있다.

■ pHY300 PLK DNA 의 구조



■ DNA 길이 4,870 bp

■ 제품설명

Plasmid pHY300PLK는 *Escherichia coli*와 *Bacillus subtilis*의 양쪽에 DNA를 형질전환할 수 있는 shuttle vector로 *E. coli* plasmid pACYC177과 *Streptococcus faecalis*의 Plasmid pAMα 1 유래의 DNA로부터 구축되어 있다. 마커는 ampicillin 내성 유전자와 tetracycline 내성 유전자로 *E. coli* 에서는 양쪽 모두 발현하지만 *B. subtilis* 중에서는 tetracycline 내성 유전자만이 발현한다. pHY300 PLK는 *Bal* I, *BamH* I, *Ban* I, *Bgl* I, *Bgl* II, *BstP* I, *EcoR* I, *EcoR* V, *Hind* III, *Hpa* I, *Sal* I, *Sma* I, *Pvu* I, *Xba* I의 제한효소 절단부위를 각 한 곳씩 갖고 있다.

■ 사용상의 주의

*B. subtilis*의 competent cell을 이용한 형질전환 효율은 plasmid dimer의 함유량에 크게 의존한다. 따라서 형질전환 빈도를 향상시키기 위해서는 plasmid를 형질전환하기 전에 *E. coli recA*⁺ 균주에서 증폭할 필요가 있다. 또한, electroporation을 이용하여 *B. subtilis*로 형질전환하는 경우에는 plasmid monomer로도 충분한 형질전환 빈도를 얻을 수 있기 때문에 특별히 *recA*⁺ 균주로 증폭할 필요는 없다.

■ 형질전환 효율

E. coli	> 2×10^5/㎍ DNA
B. subtilis	> 1×10^3/㎍ DNA (electroporation법)

pHCE vector 시리즈

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pHCE IA (Nco I)	BLS	BL001	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE IB (Nco I)	BLS	BL002	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE IIA (Nco I)	BLS	BL003	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE IIB (Nco I)	BLS	BL004	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE DNA Vector Set A (IA, IB, IIA, IIB Nco I version, 4종류)	BLS	BL005	1 Set	800,000원
pHCE IA (Nde I)	BLS	BL006	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE IB (Nde I)	BLS	BL007	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE IIA (Nde I)	BLS	BL008	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE IIB (Nde I)	BLS	BL009	10 ㎍ (200 ng/㎕)	270,000원
pHCE DNA Vector Set B (IA, IB, IIA, IIB Nde I version, 4종류)	BLS	BL010	1 Set	800,000원

■ 농도 200 ng/㎕ (10 ㎍)

■ 보존 - 20℃

■ 제품설명

pHCE DNA vector는 바이오리더스에서 개발한 강력한 재조합 단백질 및 효소발현 시스템이다. 이들 DNA vector는 단백질 발현 유도물질인 고가의 IPTG 첨가 없이도 대장균의 증식에 따라 항시적으로 발현하는 항시적 발현 시스템이다.

■ 특징

단백질 발현 유도물질인 고가의 IPTG를 첨가하는 유도과정(induction)이 필요 없다. 항시적 고발현 시스템 작동에 의해 발현 단백질량은 재조합 대장균 균체 단백질의 대략 20-70%로 재조합 단백질 및 효소의 대량 생산에 사용이 가능하다. 모든 *E. coli* 균주 (*E. coli* 변이주 포함)를 숙주세포로 사용할 수 있다.

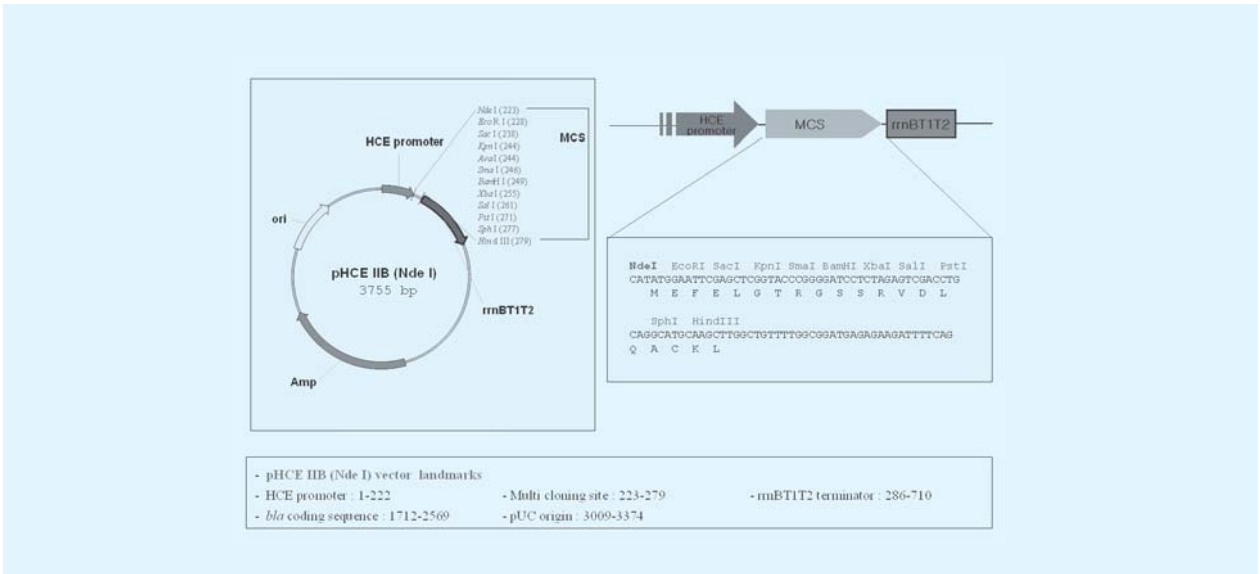
■ 용도

- 재조합 단백질 및 효소의 과발현 vector로 사용
- 모든 *E. coli* (*E. coli* 변이주 포함)를 사용한 재조합 단백질 및 효소의 과발현

■ 사용상의 주의

- 본 제품을 연구 목적 이외에 상용 목적으로 사용하는 경우에는 사전에 당사로 문의하여 협의하기 바란다.

■ pHCE DNA의 구조



기타 Vector

■ siRNA 발현 벡터

pSINsi DNA 시리즈 ▶ 제품 상세 내용은 카탈로그 H장 참조

■ 레트로바이러스 벡터

pDON-AI-2 DNA

pMEI-5 DNA ▶ 제품 상세 내용은 카탈로그 I 장 참조

■ 재조합 아데노바이러스 제작

Adenovirus Dual Expression Kit (Dual Version) ▶ 제품 상세 내용은 카탈로그 I 장 참조

■ ColdShock 발현 벡터

pCold DNA 시리즈 ▶ 제품 상세 내용은 카탈로그 L 장 참조

■ *In vivo* 발현 시스템

pLIVE Vectors 시리즈 ▶ 제품 상세 내용은 카탈로그 I 장 참조

■ 식물용 binary 벡터

pRI 101 DNA 시리즈 ▶ 제품 상세 내용은 카탈로그 I 장 참조

E. coli Competent cells genotype

■ 균주설명

고효율 α -상보성 선택 숙주 *E.coli* HST08 Premium

E. coli HST08 Premium는 외래의 메틸화된 DNA를 절단하는 유전자군 *mrr, hsdRMS, mcrBC, mcrA*가 결손되어 있다. 매우 높은 형질 전환 능력을 가지고 있기 때문에 메틸화된 DNA의 클로닝부터 유전자 라이브러리의 제작, 서브 클로닝등에 이르기까지 폭넓은 용도에 사용할 수 있다. 큰 사이즈의 plasmid DNA의 형질 전환도 높은 효율로 가능하고, 같은 유전자형을 가지는 다른 competent cells보다 colony 형성 속도도 빠르기 때문에, TaKaRa DNA Ligation Kit LONG(Code 6024)과 같이 사용하면, 10 kb이상의 DNA의 클로닝, 라이브러리 제작등을 보다 쉽게 할 수 있다. pUC계 plasmid를 이용한 형질 전환 시에는, β-galatosidase의 α-상보성을 이용해, X-Gal 첨가에 의한 재조합체의 선별이 쉽다. F-이기 때문에, BAC, fosmid vetctor에도 사용 가능하다.

dam, dcm 결손 숙주 *E.coli* HST04 dam⁻/dcm⁻

E. coli HST04 dam⁻/dcm⁻는 본래 대장균이 가지고 있는 메틸화 유전자 *dam, dcm*를 결손되어 있으므로, DNA가 대장균에 의해 메틸화되지 않는다. 본 제품으로 조제된 plasmid는 *dam* 또는 *dcm* methylase의 영향을 받는 제한효소로 절단가능하다. 또한, dam, recA의 2중 변이 숙주는 살아남을 수 없기 때문에, 본 숙주는 *recA*⁺주로 제작되었다. 그러므로, 반복서열을 갖고 있는 외래 DNA는 *recA* 유전자에 의해 재조합이 일어날 가능성이 있다. 본 제품은 클로닝용 숙주로는 적합하지 않으며, 형질전환시에는, 미리 구축된 plasmid를 추천한다.

고효율 범용 숙주 *E. coli* HB101

E. coli HB101은 재조합 DNA 실험의 초기부터 널리 사용 되어온 균주로 유전형질이 안정적이고 사용이 용이하여 형질전환 실험 목적에 적당하다.

α - 상보성 선택 숙주 *E. coli* JM109

E. coli JM109는 pUC계 plasmid vector의 형질전환이나 M13 phage vector DNA의 형질도입하는 경우, vector로부터 발현하는 *lacZα* peptide와 JM109F′가 코드하는 *lacZ*△M15에 의한 β-galactosidase의 활성회복 (α-상보성)을 이용함으로써 재조합체의 선별이 간편한 균주이다.
F′ plasmid를 갖고 있기 때문에 유전자 library 제작이나 서브클로닝 이외에 M13 vector DNA의 숙주로써 ssDNA의 제조에도 사용할 수 있다.

α - 상보성 선택 숙주 *E. coli* DH5α

pUC계 plasmid를 이용한 유전자 library 제작, 서브클로닝 등을 하는 경우, 본 숙주균과 조합하면 β-galactosidase의 α-상보성을 이용하여 X-Gal에 의해 재조합체를 쉽게 선별할 수 있다.
deoR 변이에 의해 크기가 큰 plasmid의 도입이 가능하다.

부위 특이적 변이 처리용 ssDNA 제조 숙주 *E. coli* CJ236

E. coli CJ236은 *dut*, *ung* 변이주의 대장균으로 dUTPase (Dut)와 Uracil-DNA glycosylase (UNG)가 결손되어 있어 DNA 중 Thymine (T)의 일부가 deoxyuracil (dU)로 치환된 DNA를 합성한다.
Kunkel법은 이와 같은 대장균을 이용하여 site-directed mutagenesis를 실시하는 방법으로, 변이시키고자 하는 유전자를 pUC118/119, M13 phage 등의 vector에 클로닝하여 CJ236을 숙주로 이용하여 ssDNA를 조제하므로써 Kunkel법으로 사용할 수 있는 deoxyuracil 함유하는 DNA를 얻을 수 있다. F′ plasmid (pCJ105)는 chloramphenicol 내성 유전자를 갖고 있기 때문에 chloramphenicol 존재하에 안정하게 보호· 유지된다.

부위 특이적 변이처리 유전자 고정 증폭 숙주 *E. coli* BMH71-18 *mutS*

E. coli BMH71-18 *mutS*는 *mutS* 균주로 DNA mismatch의 복구시키는 능력이 저하되어 있다. 따라서 site-directed mutagenesis를 실시할 때 BMH71-18 *mutS*를 숙주균으로 사용하면 변이 도입부분의 수복을 억제하기 때문에 도입하고자 하는 변이를 고정하기 쉬워 변이 도입 효율이 상승한다.

Amber 변이 선택용 한가닥 ssDNA 제조용 숙주 *E. coli* MV1184

E. coli MV1184는 amber suppressor free 균주로 amber 변이 DNA 선별에 이용하거나 Mutan-Express Km (Code 6090/6091), Mutan-Super Express Km (Code RR022) 에 의해 변이를 도입할 경우 변이가 도입된 DNA를 선별하기 위해 이용한다. 또 F′ plasmid를 가지기 때문에 M13 phage vector나 phagemid vector의 숙주로 ssDNA의 조제에도 이용할 수 있다.

Enforcement Cloning System용 숙주 *E. coli* TH2

E. coli TH2는 *supE*⁻, *trpR*⁻, *rpsL*⁻ 균주로 *trp* promoter의 하류에 amber 변이를 갖는 치사 유전자 *rps*L을 코드하는 Enforcement Cloning System용 vector pKF3 DNA를 사용하여 외래 유전자의 삽입 유무를 streptomycin 첨가 배지에서의 생육으로 간편하게 판별 가능한 숙주이다.

α - 상보성 선택 숙주 *E. coli* HST02

E. coli HST02는 외래의 메틸화된 DNA를 절단하는 유전자군 Δ(mrr⁻ mcrBC⁻ *hsd*RMS), *mcr*A를 완전히 결실시켜 유전자 library 제작, 서브클로닝에 폭넓게 사용할 수 있다. 또한 F′ plasmid를 가지고 있어 M13 vector DNA의 숙주로 이용할 수 있다. pUC계 plasmid 형질전환, M13 phage vector DNA 형질도입시에는 β -galactosidase의 α -상보성을 이용하여 X-Gal, IPTG에 의해 재조합체 선별이 가능하다.

■ Genotype

***E. coli* HST08 Premium**

F⁻,*endA1*, *supE44*, *thi-1*, *recA1*, *relA1*, *gyrA96*, *phoA*, *Φ*80d*lacZ*Δ *M15*, Δ(*lacZYA-argF*)*U169*, Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*), Δ *mcrA*, λ ⁻

E. coli* HST04 *dam⁻/dcm⁻

F⁻, *ara*, Δ(*lac-proAB*)[*Φ*80d*lacZ*Δ M15], *rpsL* (*str*), *thi*, Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*), Δ *mcrA*, *dam*, *dcm*

***E. coli* HB101**

*supE*44, Δ(*mcrC-mrr*), *recA*13, *ara*-14, *proA*2, *lacY*1, *galK*2, *rpsL*20, *xyl*-5, *mtl*-1, *leuB*6, *thi*-1

***E. coli* JM109**

*recA*1, *endA*1, *gyrA*96, *thi*-1, *hsdR*17 (r_K^-, m_K^+), *e*14⁻ (*mcrA*⁻), *supE*44, *relA*1, Δ(*lac-proAB*)/F′〔*traD*36, *proAB*⁺, *lacI*^{q}, *lacZ*Δ M15〕

***E. coli* DH5α**

F⁻, *Φ*80d*lacZ*Δ M15, Δ(*lacZYA-argF*) U169, *deoR*, *recA*1, *endA*1, *hsdR*17 (r_K^-, m_K^+), *phoA*, *supE*44, λ⁻, *thi*-1, *gyrA*96, *relA*1

***E. coli* CJ236**

*dut*1, *ung*1, *thi*-1, *rel*A1/pCJ105 (F′ *cam*^{r})

E. coli* BMH71-18 *mutS

Δ(*lac-proAB*), *supE*, *thi*-1, *mutS*215 : : Tn10(tet^r)/F′ [*traD*36, *proAB*⁺, *lac I*^{q}, *lacZ*Δ M15]

***E. coli* MV1184**

ara, Δ(*lac-proAB*), *rpsL*, *thi* (*Φ*80 *lacZ*Δ M15), Δ(*srl-recA*)306:Tn*10* (*tet*^{r})/F′〔*traD*36, *proAB*⁺, *lac I*^{q}, *lacZ*Δ M15〕

***E. coli* TH2**

*supE*44, *hsdS*20 (r_B^-, m_B^-), *recA*13, *ara*-14, *proA*2, *lacY*1, *galK*2, *rpsL*20, *xyl*-5, *mtl*-1, *thi*-1, *trpR*624

***E. coli* HST02**

F′ [*traD*36, *proA*⁺B⁺, *lac I*^{q}, *lacZ*Δ M15]/ Δ(*lac-proAB*), *recA*, *endA*, *gyrA*96, *thi*, e14⁻ (*mcrA*⁻), *sup*E44, *rel*A, Δ deoR, Δ(*mrr-hsd*RMS-*mcrBC*)

※ SOC 배지 (1 ㎖ × 10개) 첨부

E. coli Competent Cells

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
E. coli HB101 Competent Cells	TKR	9051	1 set (100 ㎕ x10)	205,000원
E. coli JM109 Competent Cells	TKR	9052	1 set (100 ㎕ x10)	205,000원
E. coli CJ236 Competent Cells	TKR	9053	1 set (100 ㎕ x10)	225,000원
E. coli BMH71-18 mutS Competent Cells	TKR	9054	1 set (100 ㎕ x10)	225,000원
E. coli MV1184 Competent Cells	TKR	9055	1 set (100 ㎕ x10)	225,000원
E. coli TH2 Competent Cells	TKR	9056	1 set (100 ㎕ x10)	225,000원
E. coli DH5α Competent Cells	TKR	9057	1 set (100 ㎕ x10)	205,000원
E. coli HST02 Competent Cells	TKR	9127	1 set (100 ㎕ x10)	281,000원
E. coli HST08 Premium Competent Cells	TKR	9128	1 set (100 ㎕ x10)	237,000원
E. coli HST04 dam-/dcm- Competent Cells	TKR	9129	1 set (100 ㎕ x10)	237,000원

■ 보존 - 80 ℃

■ 제품설명

Mandel과 Higa에 의한 대장균 형질전환법의 확립은 재조합 DNA 실험의 중요한 기초가 되었다. 대장균을 Ca^{2+} 이온 존재하에 놓아두면 외래 DNA (plasmid, phage DNA 등)를 세포 안으로 도입할 수 있는 "competent" 상태가 되고 이 세포를 competent cell이라 한다.

재조합 DNA 실험에서는 competent cell을 사용한 형질전환, 형질도입 등을 번번하게 실시하나 효율이 높고 재현성이 좋은 competent cell을 제조하는 것은 쉽지 않다. 유전자 library 제작, 재조합 plasmid 제작이나 서브클로닝 등 목적으로 하는 유전자 양이 적은 경우에는 도입 효율이 높은 competent cell을 사용하는 것이 중요하다.

다카라에서는 Hanahan의 방법을 개량한 새로운 방법으로 형질전환 효율이 높은 10종류의 Competent Cells *E. coli* HST08 Premium, HST04 *dam*$^-$/*dcm*$^-$, HB101, JM109, DH5α, CJ236, BMH71-18 *mutS*, MV1184, TH2, HST02 (모두 EK1계의 숙주 대장균임)를 제조· 판매하고 있다.

■ 품질

형질전환 효율

1 ng의 plasmid DNA를 형질전환한 경우

100 ㎕ *E. coli* HST08 Premium Competent Cells/1 ng pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* HST04 dam$^-$/dcm$^-$ Competent Cells/1 ng pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* HB101 Competent Cells/1 ng pBR322 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pBR322 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* JM109 Competent Cells/1 ng pBR322 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pBR322 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* DH5α Competent Cells/1 ng pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* CJ236 Competent Cells/1 ng pUC119 plasmid
> 1×10^7 transformants/1 ㎍ pUC119 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* BMH71-18 *mut*S Competent Cells/1 ng pUC119 plasmid
> 1×10^7 transformants/1 ㎍ pUC119 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* MV1184 Competent Cells/1 ng pUC119 plasmid
> 1×10^7 transformants/1 ㎍ pUC119 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* TH2 Competent Cells/1 ng pBR322 plasmid
> 1×10^7 transformants/1 ㎍ pBR322 plasmid DNA

100 ㎕ *E. coli* HST02 Competent Cells/1 ng pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

※ SOC 배지 (1 ㎖ × 10개) 첨부

E. coli Electro-Cells

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
E. coli HB101 Electro-Cells	TKR	9021	1 set (50 ㎕ x10)	287,000원
E. coli JM109 Electro-Cells	TKR	9022	1 set (50 ㎕ x10)	280,000원
E. coli MV1184 Electro-Cells	TKR	9025	1 set (50 ㎕ x10)	280,000원
E. coli HST02 Electro-Cells	TKR	9026	1 set (50 ㎕ x10)	249,000원
E. coli DH5α Electro-Cells	TKR	9027	1 set (50 ㎕ x10)	237,000원
E. coli HST08 Premium Electro-Cells	TKR	9028	1 set (50 ㎕ x10)	267,000원

■ 보존 - 80℃

■ 제품설명

고전압 pulse에 의해 일시적이면서 가역적으로 세포막에 균열을 일으켜 DNA를 세포내로 이동시키는 electroporation법은 여러 가지 형질전환법 중 가장 효과적인 방법의 하나이다. 종래의 Ca^{2+} 존재 하에서 조제한 comperent cell에 비해 형질전환 효율과 결과의 재현성이 우수하여 실험 시간을 절약할 뿐만 아니라 소량의 시료를 대장균에 도입할 때 특히 유용하다.

다카라에서는 독자적인 배양법으로 형질전환 효율이 보다 높은 6종류의 Electro-Cells *E. coli* HST08 Premium, HB101, JM109, DH5α, HST102, MV1184를 제조 · 판매하고 있다.

■ 품질

형질전환 효율

10 pg의 plasmid DNA를 형질전환한 경우

50 ㎕ *E. coli* HST08 Premium Electro-Cells/10 pg pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

50 ㎕ *E. coli* HB101 Electro-Cells/10 pg pBR322 plasmid
> 5×10^8 transformants/1 ㎍ pBR322 plasmid DNA

50 ㎕ *E. coli* JM109 Electro-Cells/10 pg pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

50 ㎕ *E. coli* DH5α Electro-Cells/10 pg pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

50 ㎕ *E. coli* MV1184 Electro-Cells/10 pg pUC119 plasmid
> 1×10^8 transformants/1 ㎍ pUC119 plasmid DNA

50 ㎕ *E. coli* HST02 Electro-Cells/10 pg pUC19 plasmid
> 1×10^9 transformants/1 ㎍ pUC19 plasmid DNA

Chaperone Competent Cell BL21 시리즈

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Chaperone Competent Cells BL21 Set	TKR	9120	100 ㎕ x 3개 x 6종류	666,000원
Chaperone Competent Cells pG-KJE8/BL21	TKR	9121	100 ㎕ x 10개	333,000원
Chaperone Competent Cells pGro7/BL21	TKR	9122	100 ㎕ x 10개	333,000원
Chaperone Competent Cells pKJE7/BL21	TKR	9123	100 ㎕ x 10개	333,000원
Chaperone Competent Cells pG-Tf2/BL21	TKR	9124	100 ㎕ x 10개	333,000원
Chaperone Competent Cells pTf16/BL21	TKR	9125	100 ㎕ x 10개	333,000원
TaKaRa Competent Cell BL21	TKR	9126	100 ㎕ x 10개	333,000원

■ 보존 - 80℃

■ 제품설명

본 제품은 Chaperone plasmid Set (Code 3340)에 포함되어 있는 5 종류의 chaperone plasmid를 각각 형질 전환한 대장균 BL21주의 competent cell이다.

본 제품에 있는 5 종류의 plasmid (pG-KJE8, pGro7, pKJE7, pG-Tf2, pTf16)는 단백질의 folding에 관여한다고 알려져 있는 복수의 분자 chaperone 이 각각 하나의 plasmid상에 코드되어 chaperone 팀으로 효율적으로 발현하도록 설계되고 있다. 이러한 chaperone 팀의 모든 목적 단백질을 공발현 (co-expression)시키는 것으로 발현 단백질의 가용화를 촉진시킬 수 있다.

대장균 BL21주는 *lon* protease, *ompT* 외막 protease가 결손된 B주 유래의 균주이다. 발현 단백질의 안정성을 기대할 수 있어 재조합 단백질 발현에 넓게 이용되고 있다.

일반적으로 chaperone plasmid를 이용해 목적 단백질과 chaperone 팀과의 co-expression을 실시하려면, chaperone plasmid로 숙주 대장균을 형질 전환하고 형질 전환체를 이용해 competent cell을 제작하고, 목적 단백질을 발현하는 플라스미드를 이용해 형질 전환을 해야한다.

본 제품은 chaperone plasmid로 형질 전환한 BL21주로부터 조제한 competent cell이므로 한 번의 형질 전환으로 간단하게 목적 단백질과 chaperone 팀과의 co-expression된 대장균을 얻을 수 있다. Chaperone plasmid 5 종류 외 control용으로 chaperone plasmid를 포함하지 않는 BL21주의 competent cell도 준비되어 있다.

본 제품은 특히 cold shock expression vector pCold DNA 시리즈 (Code 3360-3364)와 같이 사용 시 높은 효과를 얻을 수 있다.

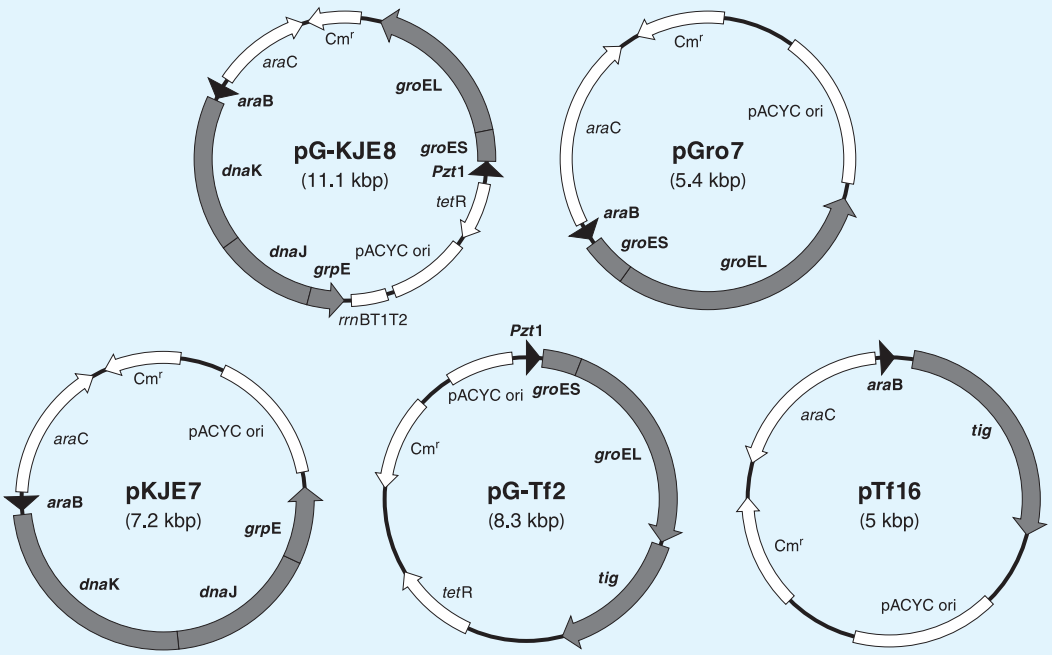
본 제품의 숙주에 이용하고 있는 BL21주는 T7 RNA Polymerase를 발현하고 있지 않기 때문에, pET 시스템 등 T7 promoter를 이용한 발현계에는 사용할 수 없다.

주) 본 제품은 electroporation에는 사용할 수 없습니다.

■ License Notice

9120 : [M7]
9121 : [M7]
9123 : [M7]

■ Chaperone plasmid 의 구조



식물의 형질전환을 위한 유전자 도입에 ※ SOC 배지 (1 ㎖ ×10개) 첨부

Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro-Cells

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro-Cells	TKR	9115	40 ㎕ x 5	333,000원

■ 내용

Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro-Cells	40 ㎕ ×5
pRI 900 DNA[*1] (1 ng/㎕)	10 ㎕
SOC 배지	1 ㎖ ×10

[*1] pRI 900 DNA : pRI 910 DNA (Code 3261)에서 MCS를 제외한 plasmid이다.

■ 보존 - 80℃

■ 제품설명

Agrobacterium tumefaciens LBA4404주는 binary vector법의 개발자인 네덜란드의 라이덴 대학의 P. J. J. Hooykaas 교수들이 개발한 균주로 T-DNA의 vir 영역 (T-DNA의 시작에서 유전자 도입에 관련되는 유전자가 존재)을 포함하는 plasmid pAL4404 를 보유하고 있어 식물의 형질전환에 많이 사용되었다. 본 제품은 binary vector법으로 사용되는 vector DNA를 균체내에 도입하기 위한 electroporation법 용의 comperent cell로 제조되어 있고, 이를 통해 얻은 형질전환 *A. tumefaciens* 는 여러 가지 식물의 형질전환 실험에 사용할 수 있다.

■ 품질

형질 전환 효율

메뉴얼에 따라 1ng의 pRI 900 DNA로 형질전환하여 $>5\times10^6$ colonies/㎍ · pRI900 DNA 의 효율을 얻었다.

기타 (유전공학 관련)

DNA 오염 제거액

DNA-OFF™

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
DNA-OFF	TKR	9036	500 ml	43,000원

■ 보존 실온 (최소 1년간은 안정)
저온에서는 침전물이 생기지만, 37℃에서 보온하면 간단하게 용해된다.

■ 제품설명
DNA-OFF는 비알칼리성, 비부식성, 비발암성의 DNA 오염 제거시약으로 실험대나 기구 등의 표면에서 DNA를 제거할 수 있다. DNA를 완전하게 분해하는 계면활성제를 포함한 안정하고 내열성이 있는 시약이다.

RNase 오염 제거액

RNase-OFF™

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
RNase-OFF	TKR	9037	500 ml	43,000원

■ 보존 실온 (최소 1년간은 안정)
저온에서는 침전물이 생기지만, 37℃로 보온하면 간단하게 용해된다.

■ 제품설명
RNase-OFF는 비알칼리성, 비부식성, 비발암성의 RNase 오염 제거 시약으로 RNase를 실활시키는 계면활성제를 함유하는 안정된 내열성의 시약이다.

Isopropyl-β-D-Thiogalactopyranoside

IPTG (dioxane free)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
IPTG (dioxane free)	TKR	9030	5 g	218,000원

■ 형상 백색 분말
■ 규격 분자량 238.31
■ 보존 - 20 ℃

■ 제품설명
IPTG는 β-galactosidase의 활성 유도물질이다. 따라서 *lacZ* 결손세포를 숙주로 하여 pUC계 plasmid vector DNA를 형질전환하거나 M13 phage vector DNA를 형질도입할 때 미리 배지에 IPTG와 X-Gal (Code 9031)을 첨가하여 놓으면 β-galactosidase의 α-상보성에 의한 발색의 유무로 간편하게 재조합체를 선별할 수 있다.
또, *lac* promoter나 *tac* promoter를 갖는 발현 vector의 발현 유도제로도 사용 가능하다.

5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-β-D-Galactoside

X-Gal

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
X-Gal	TKR	9031	1 g	191,000원

■ 형상 백색 분말
■ 규격 분자량 408.6
■ 보존 - 20 ℃

■ 제품설명
X-Gal은 β-galactosidase의 기질로 가수분해 되면 청색을 띤다.
따라서 *lacZ* 결손 세포를 숙주로 하여 pUC계 plasmid vector DNA나 M13 phage vector DNA의 형질전환을 하는 경우 배지에 X-Gal과 IPTG (Code 9030)를 첨가하여 β-galactosidase의 α-상보성에 의한 발색의 유무로 간편하게 재조합체를 선별할 수 있다.

Proteinase K

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Proteinase K	TKR	9033	5 ml	278,000원

■ 농도 20 mg/ml

■ 비활성 > 30 U/mg protein

■ 형상

20 mM	Tris-HCl, pH7.4
1 mM	$CaCl_2$
50%	Glycerol

■ 순도 DNase : 검출 한계 이하
RNase : 검출 한계 이하

■ 보존 - 20 ℃

■ 기원 *Tritirachium album*

■ 효소번호 3. 4. 21. 14

■ 반응
넓은 기질 특이성을 갖고 있으며, 소수성, 유황 함유, 방향족 아미노산의 C-말단에 인접하는 ester와 peptide 결합을 우선적으로 분해한다.

■ 특징
· 높은 활성을 나타내는 serine protease이다.
· Ca^{2+}를 함유하는 용액 중에서 충분히 활성을 유지하며, SDS나 Urea 등 단백질 변성 시약 존재 하에서는 효소 활성이 상승한다.

■ 활성의 정의
Urea에 의한 변성 bovine hemoglobin을 기질로 하여 pH7.5, 37℃에서 1분간에 1 μmol의 tyrosine에 상당하는 folin 양성 아미노산을 유리시킬 수 있는 효소활성을 1 U로 한다.

■ 용도
아래의 실험에서 DNase, RNase 등 효소의 불활성화에 유용하다.
· DNA, RNA, phage의 분리
· *in situ* hybridization
· Fingerprinting
· Colony, plaque hybridization
· Pulsed field gel 전기영동을 위한 염색체 DNA의 조제

Westase™

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Westase	OZK	9005	1 g	152,000원

■ 형상 동결건조분말
(부형제로서 celite를 포함함)

■ 규격

β -1,6-glucanase 활성 (37℃)	: 400 U/g powder 이상
세포벽 용해활성 (30℃)	: 35,000 U/g powder 이상
DNase 활성	: 검출 한계 이하

■ 보존 4℃, 건조상태

■ 제품설명
본 제품은 *Streptomyces rochei* DB-34 액체배양 상등액에서 조제된 β-1,6-glucanase, β-1,3-glucanase 활성을 주체로 하는 효모세포벽 용해용 복합효소제이다. 본 제품을 이용할 경우 *Saccharomyces cerevisiae* 등 자낭균 효모뿐 아니라 기존의 Zymolyase 처리로 충분하게 protoplast화 할 수 없었던 분열효모 *Schizosaccharomyces pombe*, 전혀 plotoplast화가 불가능했던 *Ustilago maydis, Phaffia rhodozyma, Cryptococcus albidus* 등의 담자균 효모 및 불완전 효모 등에 고효율로 protoplast화 할 수 있다.

■ 유래
Streptomyces rochei DB-34

■ 활성의 정의
β -1,6-glucanase 활성 : 37℃, pH6.0의 조건에서 10 mg/ml Pustulan 용액에서 1분간 1 μmol의 환원당을 유리하는 효소량을 1 U로 한다.

세포벽 용해 활성 : *Cryptococcus albidus* IFO 0612의 세포벽을 기질로 30℃, pH6.0의 조건에서 1분간 반응하여 660 nm 흡광도를 1% 감소시키는 활성을 1 U로 한다.

사상균 세포벽 용해 효소

Yatalase™

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Yatalase	OZK	T017	2 g	252,000원

■ 형상 동결건조 분말 (부형제로서 유당을 포함)

■ 보존 4℃ 건조 상태

■ 제품설명
Corynebacterium sp. OZ-21의 배양상청으로부터 조제된 chitinase, chitobiase, β-1,3-glucanase를 주체로 하는 복합 효소제이다.
· 열안정성이 뛰어나 상온 보존이 가능하다.
· 생 키틴을 강력하게 분해한다.
· Chitinase, chitobiase, chitosanase, β-1,3-glucanase 활성을 가진다.
· 단독으로 사상균의 원형질체를 조제할 수 있다.

■ 규격

Chitinase 활성	: 약 50 U/g powder
Chitobiase 활성	: 약 500 U/g powder
세포벽 용해 활성	: 약 10,000 U/g powder

■ 유래 *Corynebacterium* sp. OZ-21

■ 활성의 정의
Chitinase 활성:
Chitin 분말을 기질로 하여 1분간 1 μmol의 N-acetylglucosamine을 유리하는 효소 활성을 1 U로 한다.
Chitobiase 활성:
p-Nitrophenyl-*N*-acetyl-β -D-glucosaminide을 기질로 하여 1분간 1 μmol의 p-Nitrophenol을 유리하는 효소 활성을 1 U로 한다.
세포벽 용해 활성 :
Aspergillus oryzae 균체를 기질로 하여 1시간 동안 660 nm에서 혼탁도를 1% 감소시키는 효소 활성을 1 U로 한다.

■ 일반적 성질
최적 pH : pH7.2 최적온도 : 37℃

TBE (Tris-borate-EDTA) powder

MSDS

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
TBE (Tris-borate-EDTA) powder	ROM	T905	30 포	104,000원

■ 성분

TBE powder 1포 (1,000 ㎖ 분) 중

Tris (hydroxymethyl) Aminomethane	10.78 g
Boric Acid	5.51 g
EDTA	0.75 g

■ 보존 실온 건조상태
(조제 후 TBE Buffer는 밀봉하여 4℃)

■ 조제법

TBE powder 1포를 증류수에 용해하여 전량을 1,000 ㎖ 로 한다 (1×농도, 0.089 M, pH 8.3~8.5).

■ 용도

- 핵산의 전기 영동용 버퍼
- 자동 DNA sequencer용 버퍼

■ 사용상의 주의

본 제품은 보존 중에 굳을 수 있으나 품질에는 전혀 문제가 없다.

Tris-Glycine-SDS powder

MSDS

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Tris-Glycine-SDS powder	ROM	T901	50포	215,000원

■ 성분

Tris-Glycine-SDS powder 1 포 (500 ㎖ 분) 중

Tris (hydroxymethyl) Aminomethane	3.0 g
Glycine	14.4 g
Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)	0.5 g

■ 보존 실온 건조상태
(조제 후 Tris-Glycine-SDS Buffer는 밀봉하여 4℃)

■ 조제법

Tris-Glycine-SDS powder 1 포를 증류수에 용해하여 전량을 500 ㎖ 로 한다 (50 mM, pH8.3).

■ 용도

SDS-polyacrylamide gel 전기 영동 (SDS-PAGE)용 버퍼

Tris-Glycine powder

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Tris-Glycine powder	ROM	T902	50 포	215,000원

■ 성분

Tris-Glycine Powder 1포 (500 ㎖ 분) 중

Tris (hydroxymethyl) Aminomethane	3.0 g
Glycine	14.4 g

■ 보존 실온 건조상태
(조제 후 Tris-Glycine Buffer는 밀봉하여 4℃)

■ 조제법

Tris-Glycine powder 1포를 증류수에 용해하여 전량을 500 ㎖ 로 한다. (50 mM, pH8.3).

■ 용도

Polyacrylamide gel 전기 영동 (SDS - PAGE)용 버퍼

Dulbecco' s Formula (Modified) without Magnesium and Calcium

PBS (Phosphate Buffered Salts) Tablets

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
PBS (Phosphate Buffered Saline) Tablets	ROM	T900	200정	110,000원

■성분

PBS(-)정 10정(1,000 ㎖ 분) 중

NaCl	8,000 ㎎
$CaCl_2$	200 ㎎
Na_2HPO_4 (무수)	1,150 ㎎
KH_2PO_4 (무수)	200 ㎎

■보존 실온 건조상태 (제조한 PBS(-)는 밀폐하여 4 ℃)

■조제법

Phosphate Buffered Salts 10정을 증류수에 녹여 전량 1,000 ㎖ 로 한다 (9.57 mM, pH7.35~7.65)

■용도

- 조직의 해리나 세포의 세정 · 분산
- EIA법에서의 B/F 분리, 고상의 세정

Bovine Serum Albumin 용액

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Bovine Serum Albumin 용액	TKR	2320	1 ㎖	156,000원

■농도 20 ㎎/㎖

■형상

10 mM	Tris - HCl (pH7.5)
1 mM	EDTA
50 %	Glycerol

■보존 - 20℃

■제품설명

Corn 방법에 따라 소 혈청으로 조제하였고 유전공학용으로 고순도로 정제하고, 각종 nuclease를 제거하였다. 효소의 안정제로 보존액이나 반응액에 첨가한다.

■특징

본 제품은 안정제로 Takara Bio의 제한효소나 수식효소의 보존액이나 반응액에 이용되고 있어, 순도 및 안정성 검증이 완료되었다.

RNase-free Water

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
RNase-free Water	TKR	9012	1 ㎖ x10	39,000원

■ 보존

- 20 ℃

■ 순도

- RNase 활성 :

1 ㎍의 HL60 세포 유래 total RNA에 본 시약을 첨가해, 37℃, 16시간 반응시켜도, RNA의 전기영동 패턴에 변화는 일어나지 않는다.

- DNase 활성 :

1. 1 ㎍의 λDNA에 본 시약을 첨가해, 37℃, 16시간 반응시켜도, DNA의 전기영동 패턴에 변화는 일어나지 않는다.
2. 1 ㎍의 λ-Hind III digest에 본 시약을 첨가해, 37℃, 16시간 반응시켜도, DNA의 전기영동 패턴에 변화는 일어나지 않는다.
3. 1 ㎍의 pBR322 DNA에 본 시약을 첨가해, 37℃, 16시간 반응시켜도, DNA의 전기영동 패턴에 변화는 일어나지 않는다.