

T-Vector pMD20

Code No. 3270

Size: 1 μ g

Conc.: 50 ng/ μ l

* 2 years from date of receipt under proper storage conditions.

Description :

T-Vector pMD20 is a linearized vector with a single 3'-terminal thymidine at both ends. The T-overhang ends at the cloning site improve the efficiency of ligation of PCR products which contain A-overhangs at 3'-ends. T-Vector pMD20 is derived from pUC19 backbone and made some modification in the coding sequence which can reduce the false positive rate and improve the positive colonies screened by blue/white color on ampicillin/IPTG/X-Gal LB plates. In addition, SP6 promoter has been inserted in the upstream of multiple cloning site. Therefore, the inserted DNA fragments can be transcribed by SP6 RNA Polymerase (Cat. #2520). T-Vector pMD20 is supplied with a Control Insert (500 bp) DNA for positive control reaction.

Components :

T-Vector pMD20 (50 ng/ μ l) 20 μ l
 Control Insert (50 ng/ μ l) 10 μ l

Storage: -20°C

Experimental Example :

- Combine the following components in a microcentrifuge tube (total volume 5 μ l).

T-Vector pMD20	1 μ l
PCR product or Control Insert	1 μ l (0.1 - 0.3 pmol)*
Sterile purified water	3 μ l
- Add one volume (5 μ l) of DNA Ligation Kit <Mighty Mix> (Cat. #6023) to the DNA solution and mix thoroughly.
- Incubate the reactions for 30 minutes at 16°C.

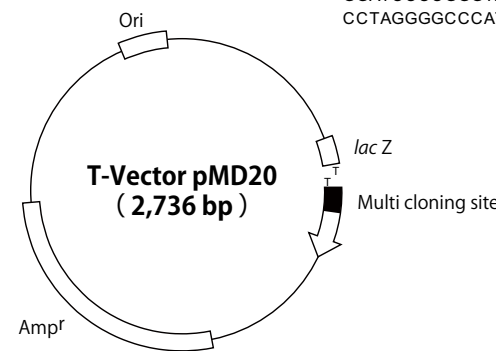
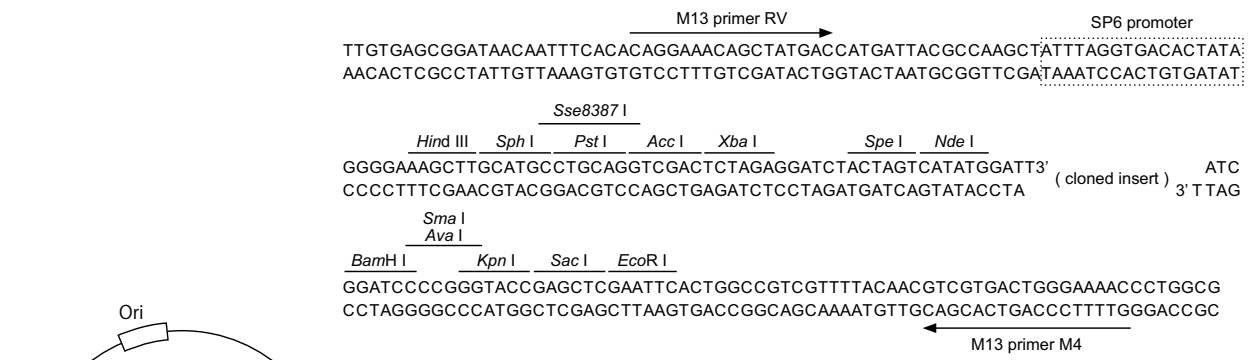
Notes : (1) The ligation reaction can be finished in only 5 minutes, but the ligation efficiency may be slightly lower.
 (2) Please extend the ligation reaction time to a few more hours if the fragments are over 2 kb.

- Add the reaction solution (10 μ l) to 100 μ l of *E. coli* competent cells. Gently flick the microcentrifuge tube to mix and then place it on ice bath for 30 minutes.
- Heat-shock the cells for 45 seconds in a water bath at 42°C. Immediately return the tube to ice bath for 1 minute.
- Add 890 μ l of SOC Medium to the tube and incubate for 1 hour at 37°C with shaking.
- Plate 100 μ l of transformation culture onto LB/ampicillin/IPTG/X-Gal plates, then incubate overnight at 37°C .
- Select the white colonies, and confirm by PCR amplification.

* The Control Insert DNA is a 500 bp PCR fragment with a single 3'-A overhang at both ends. 1 μ l of Control Insert DNA (50 ng) is approximately equal to 0.15 pmol.
 The ligation reaction has been optimized using a 1 : 2 to 10 molar ratio of the vectors to insert DNA.

Quality Control Data :

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.



This product may be covered by licenses. Visit the product page for this product on our website to get the most updated information.

Note
 This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

T-Vector pMD20

Code No. 3270

容量： 1 μ g
濃度： 50 ng/ μ l

※適切に保存し、受取り後 2 年を目途にご使用ください。

●製品説明

Taq DNA polymerase (TaKaRa Taq, TaKaRa Ex Taq, TaKaRa LA Taq, SpeedSTAR HS 等) はその合成産物の 3' 末端に dA を付加する性質をもっているため、これらを用いて増幅した PCR 産物は dT オーバーハングを 3' 末端にもつベクターにそのままクローニングすることができる。T-Vector pMD20 は、PCR 産物の簡便なクローニングのために設計されたベクターで、EcoR V サイトで切断され、各 3' 末端に dT が付加されているため、Taq DNA polymerase で増幅した PCR 産物と直接ライゲーションできる。また、形質転換体の Blue/White カラーセレクションが可能で、さらに、クローニングサイト上流に SP6 プロモーター配列を有するため、SP6 RNA polymerase を用いたクローニング遺伝子相補的な一本鎖 RNA の合成も可能である。

●内容

T-Vector pMD20 (50 ng/ μ l) 20 μ l
Control Insert (50 ng/ μ l) * 10 μ l

*: 3' 末端に dA オーバーハングを有する約 500 bp の DNA フラグメント

●保存 - 20℃

●使用例

- 下記組成の DNA 溶液 (5 μ l) を用意する。

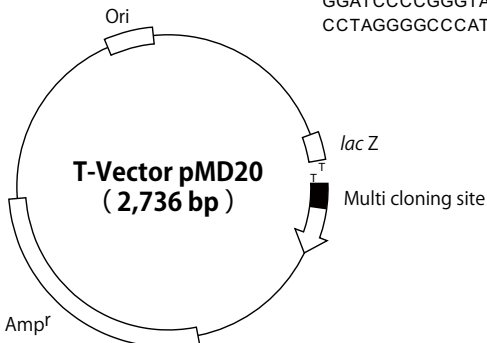
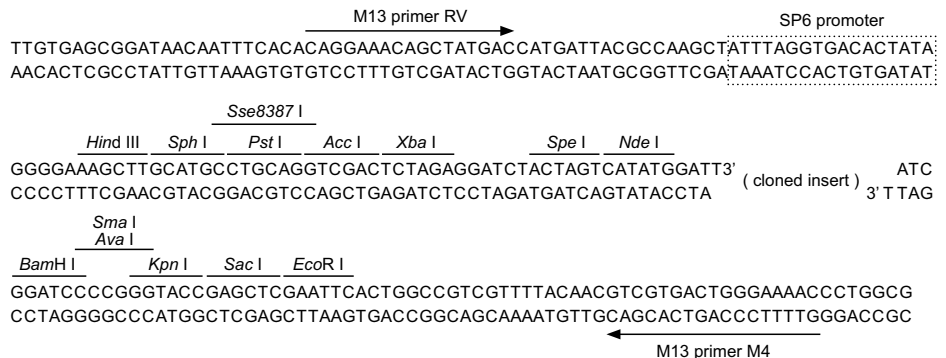
T-Vector pMD20	1 μ l
PCR 産物 (または Control Insert)	1 μ l *1
滅菌精製水	3 μ l
 - DNA Ligation Kit <Mighty Mix> 5 μ l を添加し、よく混合する。
 - 16℃で 30 分間保温する。
 - 10 μ l の反応液を用いて 100 μ l のコンピテントセル*2 を形質転換し、X-Gal、IPTG を含む L-Amp プレート上でコロニーを形成させる。
- * 1: PCR 産物と滅菌精製水で、あわせて 4 μ l になるように調整してください。PCR 産物にプライマーダイマーや非特異的バンドが認められた場合は、NucleoSpin Extract II による精製やアガロースゲルからの精製を行ってください。Control Insert を使用する場合は、1 μ l 使用してください。
- * 2: *E. coli* HST08 Premium Competent Cells、*E. coli* JM109 Competent Cells などをご使用ください。(*E. coli* HST08 Premium Competent Cells の場合は、IPTG は不要です。)

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

●関連製品

DNA Ligation Kit <Mighty Mix> (製品コード 6023)
E. coli HST08 Premium Competent Cells (製品コード 9128)
E. coli JM109 Competent Cells (製品コード 9052)
NucleoSpin Extract II (製品コード 740609.10./50./250)
SP6 RNA Polymerase (製品コード 2520)



●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。