

Adaptor, *EcoR* I-*Not* I-*Bam*H I

5'-HO AATTCGGCGGCCGCGGATCC-3'
3'-GCCGCGGCGCCTAGG p-5'

Code No. 4510

Size: 1,000 pmol

Description :

This adaptor contains both phosphorylated and non-phosphorylated non-self complementary oligonucleotides. This adaptor has a 4-base extension corresponding to an *EcoR* I half-site in addition to *Not* I and *Bam*H I sites, which reside in its internal sequence. It has already been annealed, therefore can directly be used after dissolving in sterile purified water or TE buffer.

Form : Lyophilized

Storage : -20°C

Reconstitution :

Reconstitution by sterile purified water or TE buffer. Reconstituted solution should be kept frozen (-20°C). Avoid repeated freeze-thaw cycles.

Purity :

1. Confirmed by HPLC.
2. Biological activity is confirmed by self-ligation/restriction cleavage assay after phosphorylated.

Usage :

Since this adaptor contains the cleavage sites for *Not* I and *Bam*H I in its internal sequence, the inserted DNA in the vector can be isolated by treatment of these restriction enzymes (but not by *EcoR* I). The presence of the *Not* I site in the adaptor is particularly useful for isolation of the inserted DNA, because the enzyme site consisting of 8 bp can rarely be found in the vector DNA or inserted DNA. When a DNA fragment is inserted into a vector using a typical linker, the inserted DNA could not be cut out in some cases due to unknown changes at the end of the DNA. However, the inserted DNA can be successfully isolated without such a problem when the adaptor containing the *Not* I and *Bam*H I sites is used.

Protocol :

1. Prepare a reaction mixture (5 - 10 μ l: 100 mM Tris-HCl (pH 7.6), 5 mM MgCl₂, 300 mM NaCl) containing blunt-ended DNA fragment (0.01 - 0.1 pmol) and Adaptor (1 - 10 pmol).
2. Add the same volume of Solution B of DNA Ligation Kit Ver.1 (Cat. #6021), and incubate at 16°C for 30 min.
3. Remove unused Adaptors with a gel filtration column and perform ethanol precipitation. When performing ligation with a dephosphorylated vector, phosphorylation should be done. MEGALABEL™ (Cat. #6070) is recommended for phosphorylation.

MEGALABEL is a trademark of Takara Bio Inc.

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.

v201812Da

Adaptor, *EcoR* I-*Not* I-*Bam*HI I

5'-HO AATTCGGCGGCCGCGGATCC-3'
3'-GCCGCGGCGCCTAGG p-5'

Code No. 4510

容量： 1,000 pmol

●製品説明

リン酸化および非リン酸化された2種類の非自己相補的なオリゴヌクレオチドからなる2本鎖のアダプターで、*EcoR*Iサイトの他に内部に*Not*Iサイトと*Bam*HIサイトを持っている。あらかじめアニーリングがあるので、そのまま滅菌精製水あるいはTE Bufferに溶解して使用できる。

●形状 凍結乾燥品(滅菌精製水あるいはTE Bufferに溶解する)
溶解後も-20℃保存

●保存 -20℃

●品質

1. HPLC分析により純度を確認している。
2. self-ligation/restriction cleavage assayにより biological activity を確認している。

●用途

本アダプターは内部に*Not*Iサイト、*Bam*HIサイトを持っているので、*EcoR*I以外にこれらの制限酵素でもベクターに組み込んだ断片を切り出すことができる。特に、*Not*Iは8塩基認識酵素であるため、ベクターDNAや組み込んだDNAの中にこのサイトが存在する確率はきわめて低く、組み込んだDNA断片を完全な形で切り出せる等、有用性が高い。通常のリンカーを用いてベクター中にDNA断片を組み込んだ場合、まれに末端の制限酵素サイトが潰れることにより、挿入断片をベクターから切り出すことができなくなることがある。本アダプターを用いておけば内部の*Not*Iサイトあるいは*Bam*HIサイトを利用してDNA断片を切り出すことができる。

●使用方法

1. 平滑末端DNAフラグメント(0.01 pmol~0.1 pmol)とアダプター(1 pmol~10 pmol)を加えた溶液(5~10 μlの100 mM Tris-HCl (pH7.6)、5 mM MgCl₂、300 mM NaClにて調製)を留意する。
2. 等量のDNA Ligation Kit (Ver.1) *1 B液を加え混合し、16℃にて30分間反応する。
3. 未反応のアダプターをゲルろ過カラムで除去した後、エタノール沈殿を行い、その後の反応に用いる。脱リン酸化ベクターとライゲーションを行う場合は、リン酸化反応を行う。(MEGALABEL*2を用いると便利です)

*1: DNA Ligation Kit Ver.1 (製品コード 6021)

*2: MEGALABEL (製品コード 6070)

●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。

v201812Da