

T-Vector pMD19T(Simple)

Code No. 3271

Size : 1 μ g

Shipping at - 20 °C

Stored at - 20 °C

※ 2 years from date of receipt under proper storage conditions

■ 제품설명

Taq DNA polymerase(*TaKaRa Taq*, *TaKaRa Ex Taq*, *TaKaRa LA Taq*, SpeedSTAR HS 등)는 그 합성 산물의 3' 말단에 dA 를 부가하는 성질을 갖고 있기 때문에, 이것들을 이용해 증폭한 PCR 산물은 dT overhang 을 3' 말단 가지고 있는 vector에 그대로 클로닝 할 수 있다.

T-Vector pMD19(Simple)는 PCR 산물의 간편한 클로닝을 위해서 pUC19를 기본으로 설계된 vector로, *EcoRV* 사이트에서 절단하여 각 3' 말단에 dT 를 첨가했기 때문에, *Taq* DNA polymerase 로 증폭한 PCR 산물과 직접 ligation할 수 있다. 또, transformation후 Blue/White selection이 가능하다.

게다가 원형 pUC19에 포함되어 있는 multi-cloning site(MCS)의 모든 제한 효소 사이트가 제거되고 있기 때문에, 클로닝 후, PCR 산물의 제한 효소 사이트를 이용하는 경우에 유용하다.

■ 내용

T-Vector pMD19 (Simple)(50 ng/ μ l) 20 μ l

Control Insert (50 ng/ μ l)* 10 μ l

* 3' 말단에 dA overhang을 가지는 약 500 bp 의 DNA fragment

■ 사용 예시

1. 아래와 같은 조성으로 DNA 용액(5 μ l)을 준비한다.

T-Vector pMD19 (Simple) 1 μ l

PCR 산물(또는 Control Insert) 1 μ l^{*1}

멸균수 3 μ l

2. DNA Ligation Kit <Mighty Mix> 5 μ l 를 첨가하여 잘 혼합한다.

3. 16 °C으로 30 분간 incubation한다.

4. 10 μ l 의 반응액을 이용해 100 μ l 의 competent cell^{*2} 에 형질 전환하여, X-Gal, IPTG 를 포함한 L-Amp 플레이트에서 colony를 형성시킨다.

^{*1} : PCR 산물과 멸균수로 4 μ l 가 되도록 조정한다. PCR 산물에 primer dimer나 비특이적 밴드가 있을 경우 SUPREC-PCR 에 의한 정제나 agarose gel extration을 이용한 정제 필요. Control Insert 를 사용하는 경우는 1 μ l 사용.

^{*2} : *E. coli* HST08 Premium Competent Cells, *E.coli* JM109 Competent Cells 등을 사용해 주십시오. (*E. coli* HST08 Premium Competent Cells의 경우는 IPTG는 불필요합니다.)

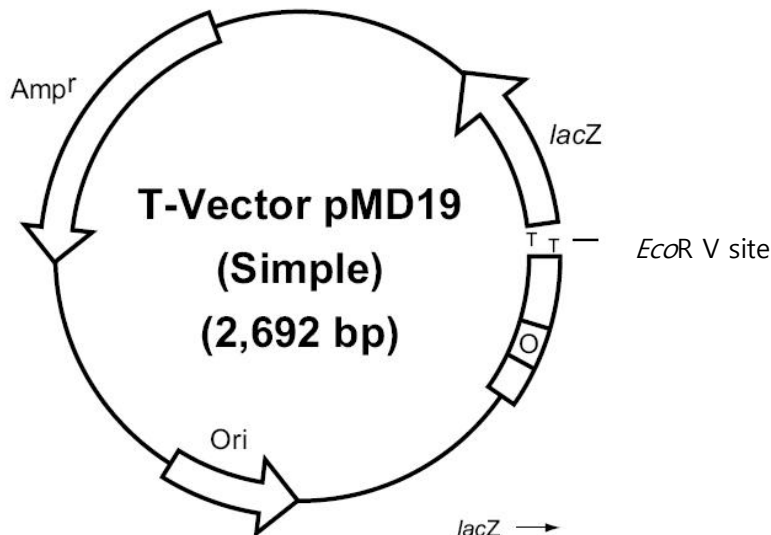
■ 품질 검정

T-Vector pMD19 (Simple)와 Control Insert 를 DNA Ligation Kit Ver. 2.1 을 이용하여 ligation 후, *E. coli* JM109 Competent Cells 에 형질 전환했을 경우, $> 1 \times 10^5$ cfu/ μ g 의 colony를 얻을 수 있었으며, 그 중 90 % 이상이 백색 colony이었다. 백색 colony의 90 % 이상이 target insert를 포함하고 있는 것을 PCR에 의해 확인하였다.

■ 관련 제품

DNA Ligation Kit <Mighty Mix>(제품 코드 6023)
E. coli HST08 Premium Competent Cells(제품 코드 9128)
E. coli JM109 Competent Cells(제품 코드 9052)
 SUPREC-PCR(제품 코드 9073)

■ Vector 정보



lacZ → M13 primer RV

GAGCGGA TAACAATTTT ACACAGGAAA CAGCTATGAC CATGATTACG CCAAGTTTGC
 CTCGCCT ATTGTAAAG TGTGTCCTTT GTCGATACTG GTACTAATGC GGTTCAAACG

EcoR V

ACGCCTGCCG TTCGAC | GATT3' (cloned insert) ATC | TCTGGAAG ATCCGCGCGT
 TCGGACGGC AAGCTG | CTA 3' TTAG | AGACCTTC TAGCGCGCA

ACCGAGTTCT AATTCACTGG CCGTCGTTTT ACAACGTCGT GACTGGGAAA ACCCTGGCGT
 TGGCTCAAGA TTAAGTGACC GGCAGCAAAA TGTTGCAGCA CTGACCCTTT TGGGACCGCA

← M13 primer M4