

간편 · 신속 · 고효율 !

DNA Ligation Kit < Mighty Mix >

TaKaRa Code 6023

DNA 단편의 ligation은 유전자 조작 실험 중 가장 빈번히 사용하는 실험 중의 하나로 주로 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.1, Ver.2.1로 판매하고 있다.

본 제품은 기존 판매되는 DNA Ligation Kit를 개선한 것으로 훨씬 높은 ligation 효율을 나타내는 제품이다.

내용

Ligation Mix	250 μ l \times 3
1반응 당 7.5 μ l 사용시	100회분량

보존

-20 $^{\circ}$ C

사용시 아이스에서 녹여서(5~10분) 사용하고, pipeting으로 잘 혼합하여 사용할 것.

50회 동결 용해시 제품 성능에 이상 없음을 확인.

특징

· 조작이 간단

Ligation Mix를 DNA용액과 혼합함으로써 모든 조작이 끝나며, 반응 후 ligation mixture 그대로 별도의 처리없이 transformation이나 *in vitro* packing에 이용할 수 있다.

· Blunt end, TA cloning에 최적

Sticky end, TA cloning뿐만 아니라, 일반적으로 효율이 낮은 blunt end ligation에서도 기존 제품 이상의 효율을 나타낸다.

· 5분만에 ligation OK

간단한 plasmid vector ligation은 25 $^{\circ}$ C, 5분 반응으로 가능하다.

· 동결 용해에도 강한 시약

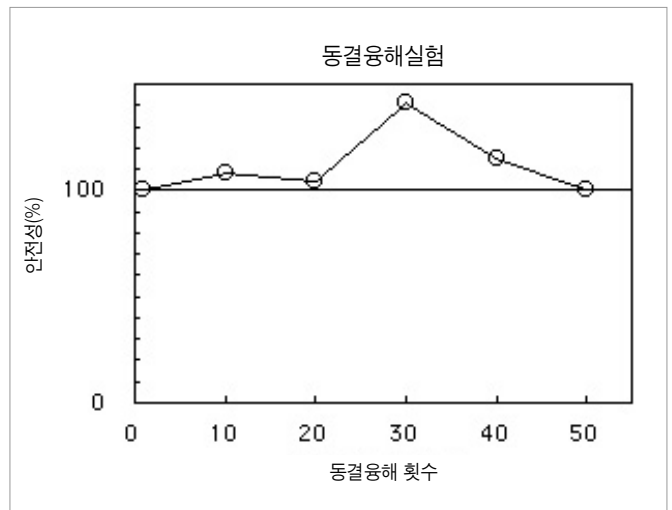
50회 동결 용해에서 효율 저하가 없는 것을 확인하였다.

반응액 및 반응 조건

	DNA용액 : Ligation Mix의 용량비	반응 조건
【1】Plasmid vector에 외래 DNA 삽입 【표준 프로토콜】 【고속 프로토콜】	1 : 1	16 $^{\circ}$ C, 30분 25 $^{\circ}$ C, 5분
【2】T vector에 PCR산물 cloning	1 : 1	16 $^{\circ}$ C, 30분
【3】Linear DNA의 self ligation (self circularization)	1 : 1	16 $^{\circ}$ C, 30분
【4】Linker Ligation, Adaptor Ligation Plasmid vector에 Linker DNA 삽입 cDNA에 Adaptor, Linker Ligation	1 : 1 1 : 2	16 $^{\circ}$ C, 30분
【5】 λ phage vector에 외래 DNA 삽입 (<i>in vitro</i> packing)	1 : 2	26 $^{\circ}$ C, 10분

안정성

pUC118-*Hind* III/BAP vector와 564 bp *Hind* III 단편을 ligation하여 동결 용해에 의한 효율의 변화를 확인하였으며, 50회 동결 용해를 반복 시 효율 저하는 없었다.

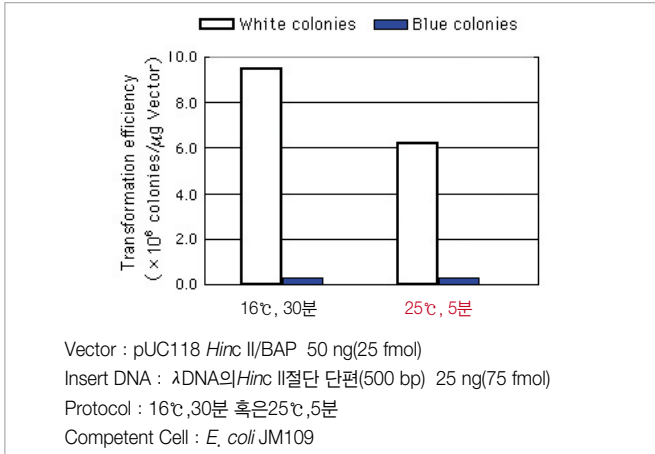


실험 예

1. 형질전환 효율

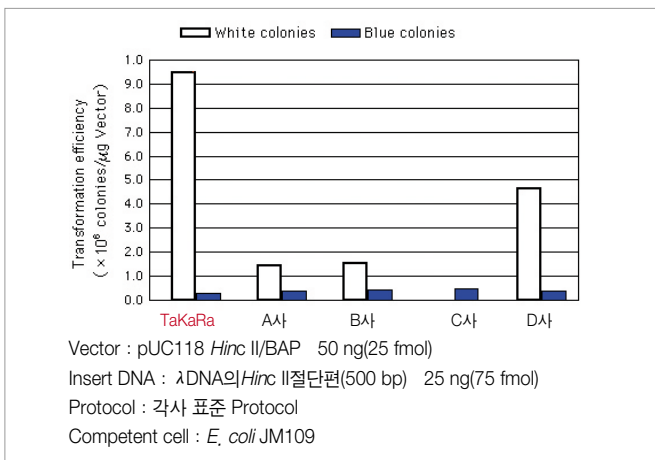
(1) 반응 시간별 효율

25℃, 5분 ligation 반응으로 insert 함유율이 높고, 충분한 형질 전환 효율을 얻을 수 있다.



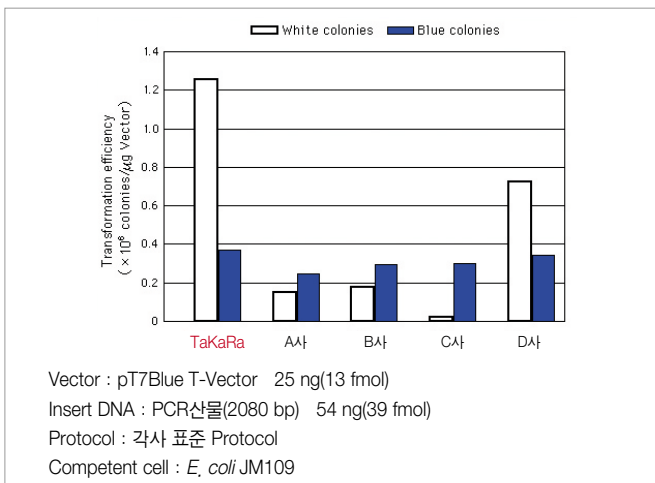
(2) Blunt end ligation시 효율성

타사 제품에 비해 많은 colony를 형성하였으며, white colony의 형성비율도 높았다.



(3) T vector ligation

타사 제품에 비해 많은 colony를 형성하였으며, white colony의 형성비율도 높았다.



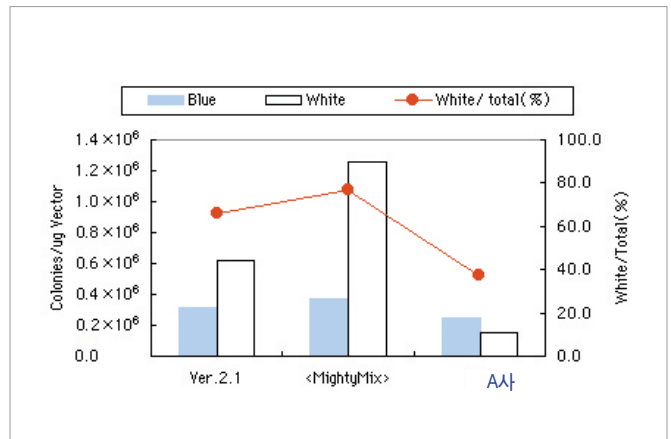
[타사 제품과 Protocol 비교]

	조작성	반응 온도	반응 시간
TaKaRa	Solution 1개 사용 ^{*1}	16°C	30분
A사	Solution 1개 사용 ^{*1}	16°C	30분
B사	Solution 2개 사용 ^{*2}	25°C	15분
C사	Solution 2개 사용 ^{*2}	25°C	15분
D사	Solution 2개 사용 ^{*2}	25°C	5분

*1 : Solution 1개 사용은 DNA용액에 한 종류의 용액을 첨가하여 ligation 반응 실시
 *2 : Solution 2개 사용은 DNA용액에 두 종류의 용액을 첨가하여 ligation 반응 실시

2. DNA Ligation Kit Ver.2.1과 비교

(1) T vector에 PCR산물 cloning



(2) Blunt end ligation

