

효율적인 cloning을 위한

Mighty TA-cloning kit

Takara Bio에서는 합리적인 가격으로 TA-cloning을 수행할 수 있는 신제품 **Mighty TA-cloning Kit** (TaKaRa Code 6028)를 출시하였다. 본 제품은 cloning 후 insert 확인, Sequencing 및 *in vitro* transcription 등 부가적인 실험이 가능하도록 설계된 multi-cloning site (MCS)를 가지고 있는 **pMD20-T vector**와 Takara Bio의 베스트셀러 중 하나인 **DNA Ligation Kit** (Mighty Mix TaKaRa Code 6023)로 구성되어 있어, 간편하면서도 단시간에 ligation 반응을 수행할 수 있다.

■ 제품구성 (20 회)

pMD20-T vector (50 ng/ μ l)	20 μ l
Ligation Mighty Mix	50 μ l \times 2
Positive Control Insert	10 μ l

■ pMD20-T vector

pMD20-T vector는 PCR 산물을 간편하게 TA-cloning 할 수 있도록 설계된 vector로 EcoR V site로 절단하여 각 3' -말단에 dT를 부가하여 A-tail을 가진 PCR 산물을 직접 ligation 할 수 있다. 또한, *lacZ* 서열을 포함하고 있어 blue / white screening을 통하여 쉽게 positive clone을 선별할 수 있다. 본 Vector는 Multi cloning site (MCS) 상류에 SP6 promoter 서열을 도입하여 SP6 RNA Polymerase를 이용하여 *in vitro* transcription으로 클로닝 유전자와 상보적인 ssRNA 합성도 가능하다 (그림 1). 또한, M13-M4/M13-RV primer site를 가지고 있어 colony PCR을 통하여 insert size 확인 및 염기서열해석을 쉽게 할 수 있도록 하였다. Colony PCR을 위하여 loading dye가 포함된 2 x PCR premix

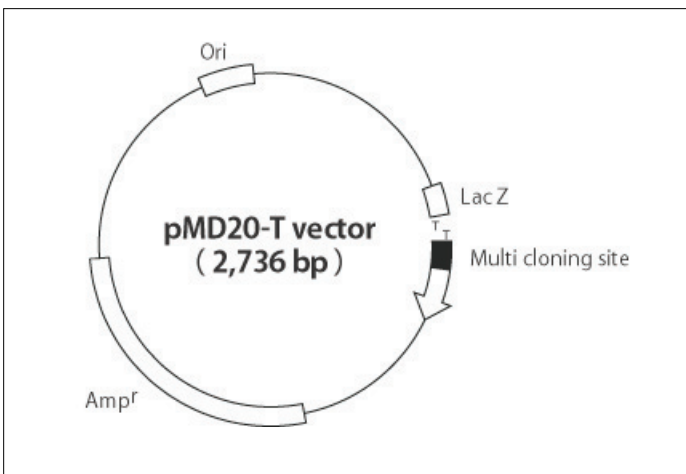


그림 1. pMD20-T vector의 구조

형태의 제품인 **EmeraldAmp™ PCR Master Mix** (TaKaRa Code RR300A) 또는 **SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix** (TaKaRa Code RR350A)를 사용하면 빠르고 간편하게 insert를 확인할 수 있다.

■ DNA Ligation Kit (Mighty Mix)

Mighty TA-cloning Kit에는 Takara Bio의 다양한 Ligation Kit 시리즈 중에서도 사용이 가장 편리하고 ligation 효율이 높은 **Ligation Mighty Mix**가 포함되어 있다. 본 제품은 ligase와 buffer, enhancer (ligation과 transformation 효율 증대) 등이 포함된 2 x premix 형태로, 조각이 매우 간단하여 Ligation Mix와 DNA 용액을 1 : 1로 혼합하여 반응한 후 별도 정제과정 없이 ligation mixture 그대로 transformation이나 *in vitro* packing에 이용할 수 있다. 기존에 판매되고 있던 **Ligation Kit Ver. 2.1** (TaKaRa Code 6022)과 비하여 반응액의 구성이 간소화 (표 1) 된 반면, ligation /transformation 효율은 높아져 (그림 2) 한층 더 간편하게 고효율의 ligation 반응을 진행할 수 있게 되었다.

표 1. Mighty Mix (6023)와 Ligation Kit Ver.2.1 (6022)의 반응액 구성 비교

제품명	반응액 구성	기능
Mighty Mix (6023)	Ligation Mix	Enzyme solution
Ligation Kit Ver.2.1 (6022)	Solution I	Enzyme solution
	Solution II	Concatenation
	Solution III	Transformation enhancer

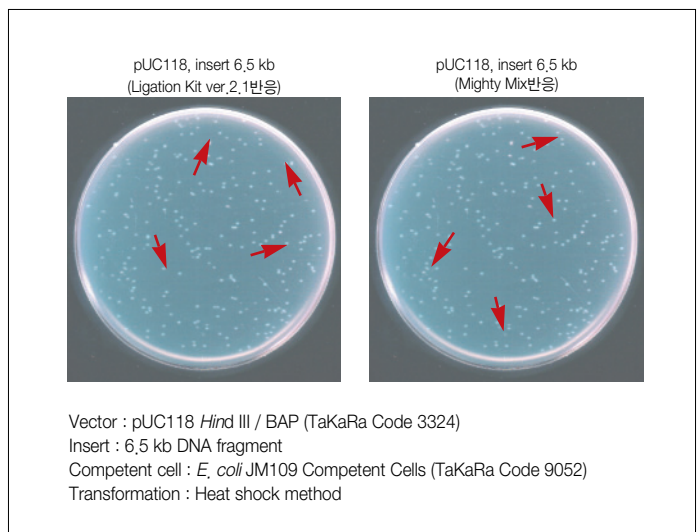


그림 2. Mighty Mix (6023)와 Ligation Kit Ver.2.1 (6022)의 cloning 효율 비교

효율적인 cloning을 위한

Mighty TA-cloning kit

Continued...

이와 같이 Mighty TA-cloning Kit을 이용하면 PCR 산물을 단시간에 간편하면서도 고효율로 TA-cloning 할 수 있다. Vector와 ligation kit는 **pMD20-T vector** (TaKaRa Code 3270)와 **DNA Ligation Kit (Mighty Mix)** (TaKaRa Code 6023)로 각각 이용할 수 있다.

또한, Takara Bio에서는 일반적인 cloning 뿐만 아니라 길이가 긴 plasmid DNA의 형질전환 및 library 제작에 효과적으로 적용할 수 있는 **E. coli HST08 Premium Competent Cells** (TaKaRa Code 9028) 외에 다양한 competent cell도 판매하고 있다.

■ 관련제품

제품명	용량	TaKaRa Code
DNA Ligation Kit (Mighty Mix)	100 회 (7.5 µl 반응 시)	6023
T-Vector pMD20	1 µg	3270
T-Vector pMD19 (Simple)	1 µg	3271
EmeraldAmp™ PCR Master Mix	160 회 (50 µl 반응 시)	RR300A
SapphireAmp™ Fast PCR Master Mix	160 회 (50 µl 반응 시)	RR350A
E. coli HST08 Premium Competent Cells	1 Set (100 µl x 10)	9028
E. coli DH5 αCompetent Cells	1 Set (100 µl x 10)	9057
E. coli JM109 Competent Cells	1 Set (100 µl x 10)	9052
E. coli HST08 Premium Electro-Cells	1 Set (50 µl x 10)	9128
E. coli DH5 αElectro-Cells	1 Set (50 µl x 10)	9027
E. coli JM109 Electro-Cells	1 Set (50 µl x 10)	9022

〈TaKaRa Ligation Kit 시리즈〉

하나, 사용이 매우 편리한 2 x ligation premix

DNA Ligation Kit 〈Mighty Mix〉

▽ Ligase, buffer, transformation enhancer까지 모두 하나의 tube에

▽ 간단한 plasmid ligation은 25 °C, 5분 반응으로도 OK!

TaKaRa Code	용량	가격
6023	100 회*	168,000 원

*반응 당 7.5 µl 사용시

둘, Insert Size? 이제 더 이상 Cloning에 걸림돌이 아닙니다.

TaKaRa DNA Ligation Kit LONG

▽ 10 kb 이상의 DNA 단편 cloning에 최적

▽ BAC library 등 긴 단편의 DNA library 제작에 최적

TaKaRa Code	용량	가격
6024	1 kit	168,000 원