



dA-overhang reaction Mix

I. 製品説明

α 型の高正確性 PCR 酵素は、3'→5' エキソヌクレアーゼ活性(校正活性)を有するため、得られる PCR 産物は平滑末端です。この PCR 産物を TA クローニングするためには、3'末端に dA を付加する必要があります。

本品は、平滑末端の PCR 産物に dA を簡便に付加するための 10 x 反応液です。本品で dA を付加した PCR 産物は、そのまま TA クローニングに用いることができます。

II. 保存

-20°C

III. 製品内容

dA-overhang reaction Mix 25 μ l x 1 本

IV. 使用方法

1. インサート DNA の調製

- ① α 型 PCR 酵素を用いて、目的の配列を増幅します。
- ② 反応液の一部をアガロースゲル電気泳動に供して、増幅産物の確認を行います。
- ③ 精製キット「ISOSPIN PCR Product」または「ISOSPIN Agarose Gel」等を用いて、PCR 産物の精製を行います。

2. dA 付加反応

- ① 新しいチューブに以下の比率で反応液を調製し、良く混合して下さい。
<反応液調製>
dA-overhang reaction Mix 1 μ l
精製した PCR 産物 9 μ l
Total 10 μ l
- ② 反応液を 65°C で 10 分間反応させます。
- ③ 反応液は、そのままライゲーションに用いることができます。

V. 注意点

- dA 付加反応は、ライゲーションの直前に行うようにして下さい。
- 反応液はそのままライゲーションに用いることができますが、効率が悪い場合は T-vector とのモル比を最適化して下さい。「TA-Enhancer Cloning Kit」を用いる場合は、反応液の持ち込みを 4 μ l 以下にして下さい。

VI. 関連製品

- α 型高正確性 PCR 酵素
「Go-to DNA Polymerase」
- PCR 産物精製キット
「ISOSPIN PCR Product」
- アガロースゲルからの DNA 精製キット
「ISOSPIN Agarose Gel」
- TA クローニングキット
「TA-Enhancer Cloning Kit」
- コンピテントセル
「EcosTM Competent *E.coli*」

本品は、試薬(試験研究用)として販売しているものです。
医薬品の用途には使用しないでください。