

研究用

TAKARA

DNA Ligation Kit
< Mighty Mix >

説明書

DNA フラグメントのライゲーションは、遺伝子操作実験で頻繁に行う操作です。DNA 間の結合には T4 DNA Ligase が用いられますが、DNA の末端構造によって反応速度は著しく異なります。そのため、DNA の末端形状にあわせて加える酵素量や反応時間を調節する必要があります。タカラバイオでは、このような煩雑さをなくし、さらに、通常のライゲーション反応を迅速、簡便に行えるシステム「DNA Ligation Kit」を開発し、長年多くの研究者の皆様にご利用いただいております。

DNA Ligation Kit <Mighty Mix> は、従来の DNA Ligation Kit をさらに改良し、高いライゲーション効率を実現しました。本製品は以下のような特長をもっています。

● オールインワン！

酵素・バッファのプレミックス 1 液タイプで、あらゆるタイプのライゲーション反応において Ligation Mix を DNA 溶液と混合するだけの簡単操作です。反応後、そのまま形質転換や *in vitro* パッケージングを行うことができます。凍結融解にも強く安心の品質です。

● 平滑末端、TA クローニングにも最適

粘着末端はもちろん、高い効率を得ることが難しい平滑末端クローニングや TA クローニングにおいても、従来の Version に比べて同等以上の効率を得られます。

● 5 分間ライゲーションも OK

プラスミドベクターへのライゲーションでは 25℃、5 分での反応も可能です。お急ぎの実験にもご利用ください。

表 1. DNA Ligation Kit <Mighty Mix> の反応液量および反応条件

	DNA 溶液： Ligation Mix の容量比	反応条件
[1] プラスミドベクターへの外来 DNA の挿入		
【標準プロトコール】	1 : 1	16℃、30 分
【高速プロトコール】	1 : 1	25℃、5 分
[2] T-ベクターへの PCR 産物のクローニング	1 : 1	16℃、30 分
[3] 直鎖状 DNA の分子内ライゲーション (self circularization)	1 : 1	16℃、30 分
[4] Linker Ligation、Adaptor Ligation		
プラスミドベクターへのリンカー DNA の挿入	1 : 1	16℃、30 分
cDNA へのアダプター／リンカー Ligation	1 : 2	16℃、30 分
[5] λファージベクターへの外来 DNA の挿入 (<i>in vitro</i> パッケージング)	1 : 2	26℃、10 分

なお、本説明書で示した実験結果は、DNA Ligation Kit <Mighty Mix> を用いた時の標準的な数値です。

I. 内容

Ligation Mix 150 μ l \times 5 本
1 回あたり 7.5 μ l 使用する場合は、100 回分に相当します。

II. 保存

- 20°C

使用時には氷上で融解 (5 ~ 10 分) し、ピペッティング等により良く混合してください。
50 回の凍結融解では性能に影響がないことを確認しています。(IV. 安定性を参照)

III. 使用方法および使用例

【1】プラスミドベクターに外来 DNA を挿入する場合

通常のライゲーションは、【標準プロトコール】で行ってください。

突出末端ライゲーションや、平滑末端でも高い効率が要求されない場合、【高速プロトコール】でも十分な効率が得られます。(効率の比較は、使用例 4 をご参照ください。)

反応時間を短縮したい場合は、【高速プロトコール】をお試しください。

【標準プロトコール】

- (1) プラスミドベクター [25 fmol ; pUC118 DNA (3,162 bp) の場合 約 50 ng]、およびインサート DNA (25 ~ 250 fmol) を含む DNA 溶液 5 ~ 10 μ l を用意する*¹。
- (2) (1) の DNA 溶液と等量の Ligation Mix (5 ~ 10 μ l) を添加し、ピペッティング等により、よく混合する。
- (3) 16°C で 30 分間*² 保温する。
- (4) 直ちに形質転換を行う場合には、100 μ l のコンピテントセルに 10 μ l*³ の反応液を加える。

* 1 : TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH8.0) などに溶解してください。

* 2 : ライゲーションがおこりにくい場合は時間をのばしてください (~ overnight)。

* 3 : 大量の DNA 溶液をコンピテントセルに加える場合、およびエレクトロポレーションにより形質転換を行う場合はエタノール沈殿により DNA を回収してから行ってください。

【高速プロトコール】

- (1) プラスミドベクター [25 fmol ; pUC118 DNA (3,162 bp) の場合 約 50 ng]、およびインサート DNA (25 ~ 250 fmol) を含む DNA 溶液 5 ~ 10 μ l を用意する*¹。
- (2) (1) の DNA 溶液と等量の Ligation Mix (5 ~ 10 μ l) を添加し、ピペッティング等により、よく混合する。
- (3) 25°C*² で 5 分間保温する。
- (4) 直ちに形質転換を行う場合には、100 μ l のコンピテントセルに 10 μ l*² の反応液を加える。

* 1 : TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH8.0) などに溶解してください。

* 2 : 反応温度を上げると (> 26°C) 環状 DNA が形成されにくくなります。高速プロトコールの場合は必ず 25°C で反応してください。

* 3 : 大量の DNA 溶液をコンピテントセルに加える場合、およびエレクトロポレーションにより形質転換を行う場合はエタノール沈殿により DNA を回収してから行ってください。

<使用例>

● 使用例 1 突出末端のベクターライゲーション

方法：pUC118 *Hind* III/BAP (製品コード 3324) (50 ng、25 fmol) に、564 bp の λ DNA 由来の *Hind* III 断片 (2.5 ~ 150 fmol) を加えた DNA 溶液 7.5 μ l に Ligation Mix を 7.5 μ l 加え、16°C で 30 分間反応した。反応液のうち 10 μ l で、*E. coli* JM109 コンピテントセル (7.3×10^8 cfu/ μ g pUC118) 100 μ l を形質転換し、X-Gal、IPTG を含む L-amp プレート上でコロニーを形成させ、コロニー数を計測して形質転換効率を調べた。

結果：

Insert/vector (モル比)	形質転換効率 (colonies/ μ g vector)		白コロニー率 (%)
	white	blue	
—	3.8×10^4	2.5×10^5	13.0
1/10	5.6×10^5	2.4×10^5	70.2
1/4	1.1×10^6	2.4×10^5	82.9
1	4.3×10^6	2.4×10^5	92.6
3	8.2×10^6	3.3×10^5	96.2
6	9.1×10^6	2.4×10^5	97.4

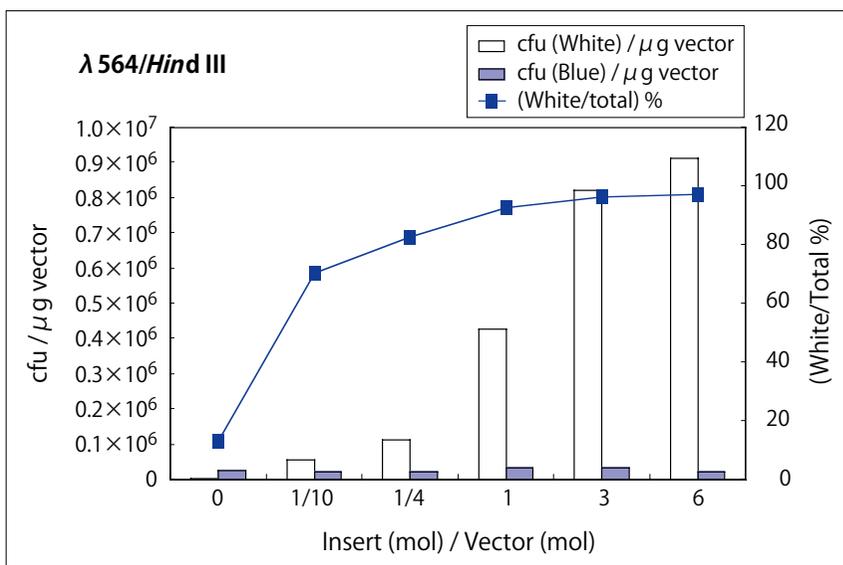


図1. λ *Hind* III 断片 (564 bp) を用いたベクターライゲーション

● 使用例 2 平滑末端のベクターライゲーション

方法：pUC118 *Hinc* II/BAP (製品コード 3322) (50 ng、25 fmol) に、500 bp の λ DNA 由来の *Hinc* II 断片 (2.5 ~ 150 fmol) を加えた DNA 溶液 7.5 μ l に Ligation Mix を 7.5 μ l 加え、16°C で 30 分間反応した。反応液のうち 10 μ l で、*E. coli* JM109 コンピテントセル (7.3×10^8 cfu/ μ g pUC118) 100 μ l を形質転換し、X-Gal、IPTG を含む L-amp プレート上でコロニーを形成させ、コロニー数を計測して形質転換効率を調べた。

結果：

Insert/vector (モル比)	形質転換効率 (colonies/ μ g vector)		白コロニー率 (%)
	white	blue	
—	1.6×10^4	2.1×10^5	6.7
1/10	5.6×10^5	2.3×10^5	70.6
1/4	1.1×10^6	2.2×10^5	83.0
1	4.2×10^6	3.0×10^5	93.4
3	7.5×10^6	2.6×10^5	96.7
6	6.7×10^6	3.7×10^5	94.8

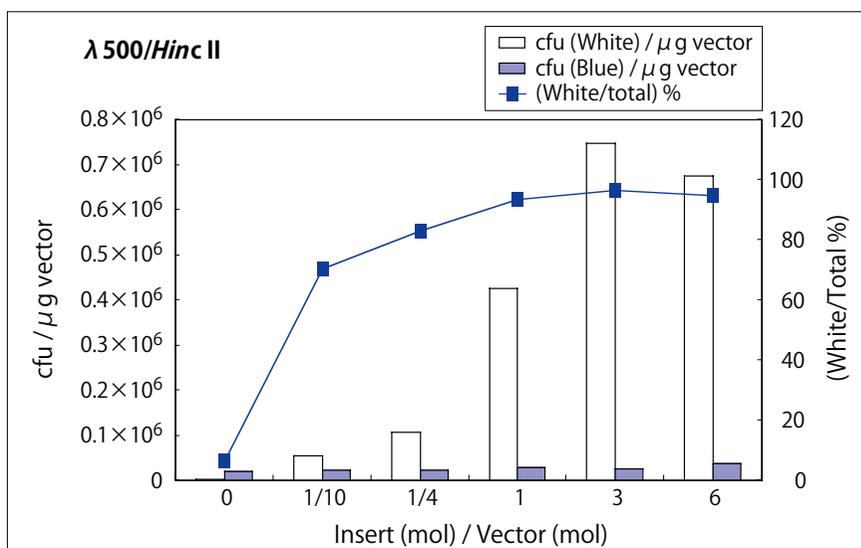


図 2. λ *Hinc* II 断片 (500 bp) を用いたベクターライゲーション

得られた白色コロニーについて、インサートチェックを行った。

表 2. インサートチェック (正しいインサート/白色コロニー)

Insert	Insert : Vector	
	0.1 : 1	3 : 1
λ 564 / <i>Hind</i> III	21 / 24	24 / 24
λ 500 / <i>Hinc</i> II	24 / 24	22 / 24

Insert / Vector 比は 1 以上で効率良く陽性クローンを得ることができます。Insert / Vector 比が 6 以上の時は、形質転換効率が低くなる場合があります。Insert / Vector 比は 3 程度で実験されることをお勧めします。また、Insert DNA の鎖長が短いとマルチライゲーション (Insert DNA が複数つながった Insert が Vector に挿入される反応) の頻度が高くなります。マルチライゲーションは Insert / Vector 比が高い程起こりやすくなりますので、マルチライゲーションの頻度が高い場合は、Insert / Vector 比を低くしてください。

● 使用例 3-1 5'リン酸化ベクターを用いた5'脱リン酸化インサートとのベクターライゲーション

方法：pUC118のHincII断片(50 ng、25 fmol、5'末端リン酸化)に、5'末端が脱リン酸化されている500 bpのHincII断片(25 ~ 750 fmol)を加えたDNA溶液7.5 μlにLigation Mixを7.5 μl加え、16°Cで30分間反応した。反応液のうち10 μlで、E. coli JM109コンピテントセル(6.2 × 10⁸ cfu/μg pUC118)100 μlを形質転換し、X-Gal、IPTGを含むL-ampプレート上でコロニーを形成させ、コロニー数を計測して形質転換効率を調べた。

結果：

Insert/vector (モル比)	形質転換効率 (colonies/μg vector)		白コロニー率 (%)
	white	blue	
0	1.1 × 10 ⁶	8.0 × 10 ⁷	1.3
1	3.6 × 10 ⁶	6.4 × 10 ⁷	5.3
5	6.7 × 10 ⁶	5.0 × 10 ⁷	11.9
15	5.0 × 10 ⁶	2.6 × 10 ⁷	16.3
30	3.6 × 10 ⁶	1.5 × 10 ⁷	19.1

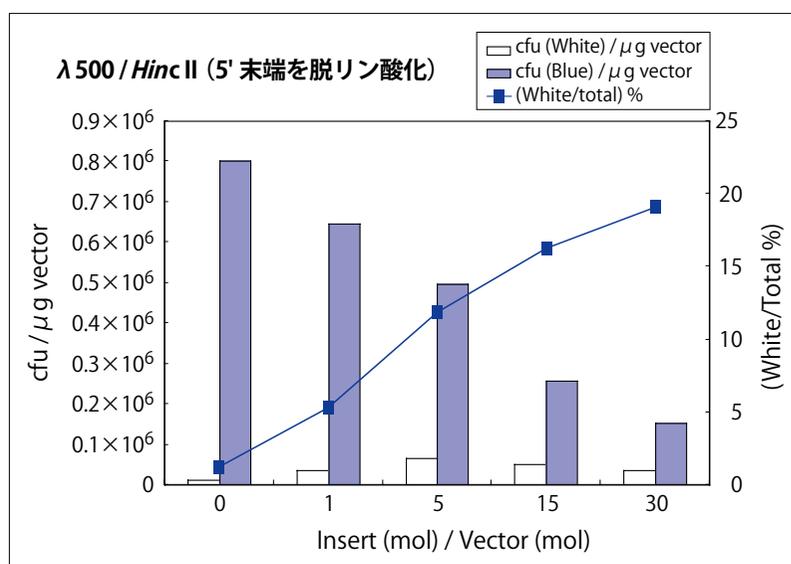


図3-1. 5'リン酸化ベクターとλHincII断片(500 bp、脱リン酸化)を用いたベクターライゲーション

● 使用例 3-2 5'リン酸化ベクターを用いた5'リン酸化インサートとのベクターライゲーション

方法：pUC118のHincII断片(50 ng、25 fmol、5'末端リン酸化)に、5'末端がリン酸化されている500 bpのHincII断片(25～750 fmol)を加えたDNA溶液7.5 μlにLigation Mixを7.5 μl加え、16℃で30分間反応した。反応液のうち10 μlで、E. coli JM109コンピテントセル(4.6 × 10⁸ cfu/μg pUC118)100 μlを形質転換し、X-Gal、IPTGを含むL-ampプレート上でコロニーを形成させ、コロニー数を計測して形質転換効率を調べた。

結果：

Insert/vector (モル比)	形質転換効率 (colonies/μg vector)		白コロニー率 (%)
	white	blue	
0	2.7×10 ⁵	5.6×10 ⁷	0.5
1	3.0×10 ⁶	5.6×10 ⁷	5.1
5	8.1×10 ⁶	4.4×10 ⁷	15.5
15	6.0×10 ⁶	1.9×10 ⁷	24.3
30	3.5×10 ⁶	8.9×10 ⁶	28.4

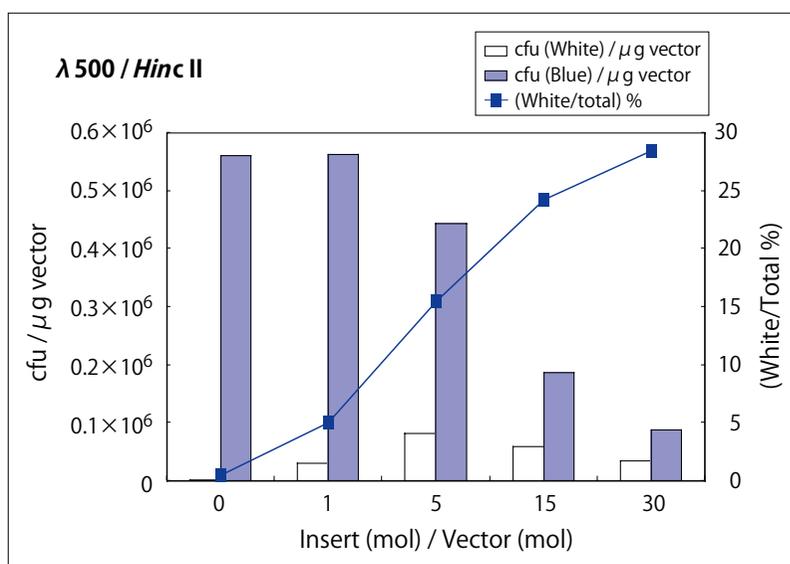


図3-2. 5'リン酸化ベクターとλHincII断片(500 bp、リン酸化)を用いたベクターライゲーション

ベクターの5'脱リン酸化を省略しても、陽性クローンを得ることができます。陽性コロニー率はInsert/Vector比が高い程高くなりました。5'末端リン酸化ベクターは、5'末端が脱リン酸化されているInsert断片の挿入にも使用することができます。

● 使用例 4 高速プロトコール (25℃、5分) での反応

方法：突出末端、平滑末端のベクターライゲーションを 25℃、5 分間、および 16℃、30 分間のライゲーション反応で行い、効率を比較した。同時に、25℃、5 分間のライゲーション反応を推奨条件としている D 社製 Kit とも効率を比較した。

結果：

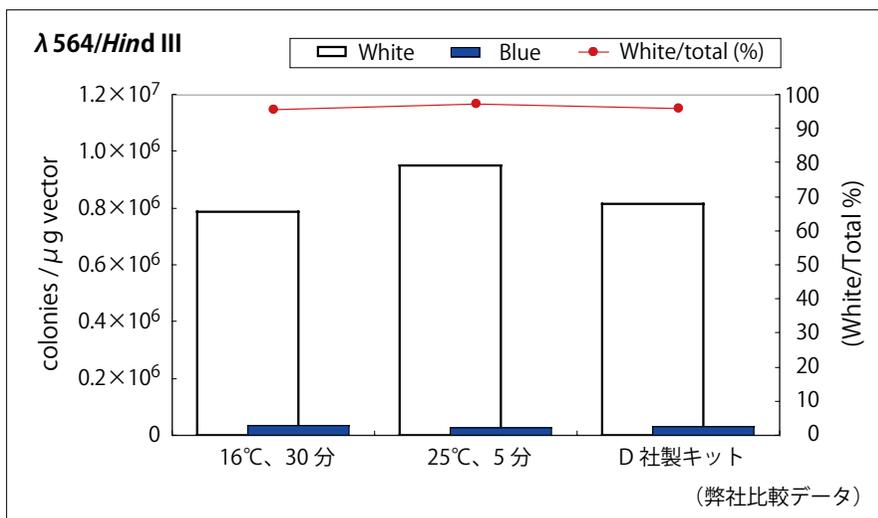


図 4-1. 突出末端のベクターライゲーション

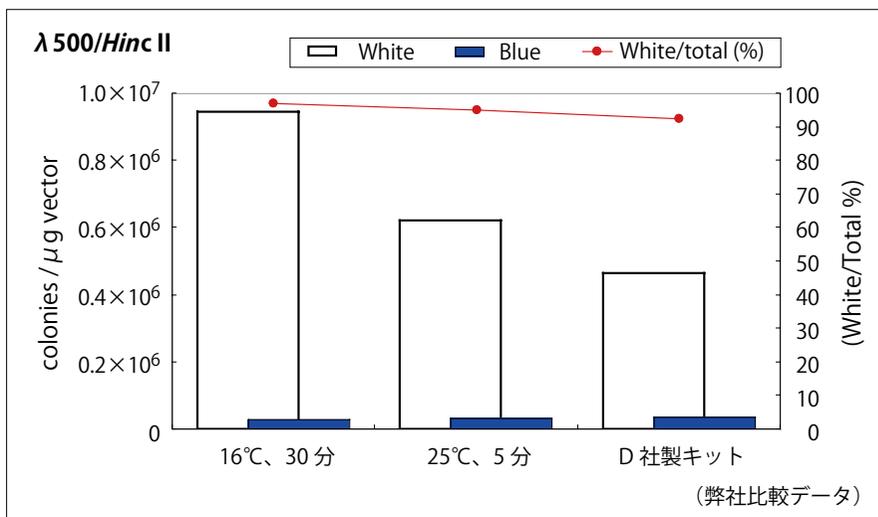


図 4-2. 平滑末端のベクターライゲーション

突出末端のベクターライゲーションでは、25℃、5 分間の反応でも、16℃、30 分間の反応と同等の効率が得られました。平滑末端では 16℃、30 分間の反応を行った方が高効率でしたが、25℃、5 分間の反応でも D 社製キットを用いた場合よりも高い効率が得られました。

このように、突出末端のベクターライゲーションや高い効率が要求されない平滑末端のベクターライゲーションでは、反応時間の短縮が可能です。

[2] T-Vector へ PCR 産物をクローニングする場合

- (1) T-Vector [13 ~ 25 fmol; T-Vector pMD20 の場合、約 25 ~ 50 ng] に、インサート DNA (5 ~ 250 fmol) を加えた DNA 溶液 5 ~ 10 μ l を用意する*1。
- (2) (1)の DNA 溶液と等量の Ligation Mix (5 ~ 10 μ l) を添加し、ピペティング等により、よく混合する。
- (3) 16°C で 30 分間*2 保温する。
- (4) 直ちに形質転換を行う場合には、100 μ l のコンピテントセルに 10 μ l*3 の反応液を加える。

* 1 : TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH8.0) などに溶解してください。

* 2 : T-Vector を用いて PCR 産物の Ligation を行う場合は、反応時間は 1 時間以内にしてください。長時間反応させると、バックグラウンドが高くなる場合があります。

* 3 : 大量の DNA 溶液をコンピテントセルに加える場合、およびエレクトロポレーションにより形質転換を行う場合はエタノール沈殿により DNA を回収してから行ってください。

<使用例> T-Vector とのベクターライゲーション

方法 : pT7Blue T-Vector (25 ng, 13 fmol) に、2,080 bp の PCR fragment (39 fmol) を加えた DNA 溶液 10 μ l に Ligation Mix を 10 μ l 加え、16°C で 30 分間反応した。反応液 10 μ l で、*E. coli* JM109 コンピテントセル (7.8×10^8 cfu/ μ g pUC118) 100 μ l を形質転換し、X-Gal、IPTG を含む L-amp プレート上でコロニーを形成させ、コロニー数を計測して形質転換効率を調べた。

結果 :

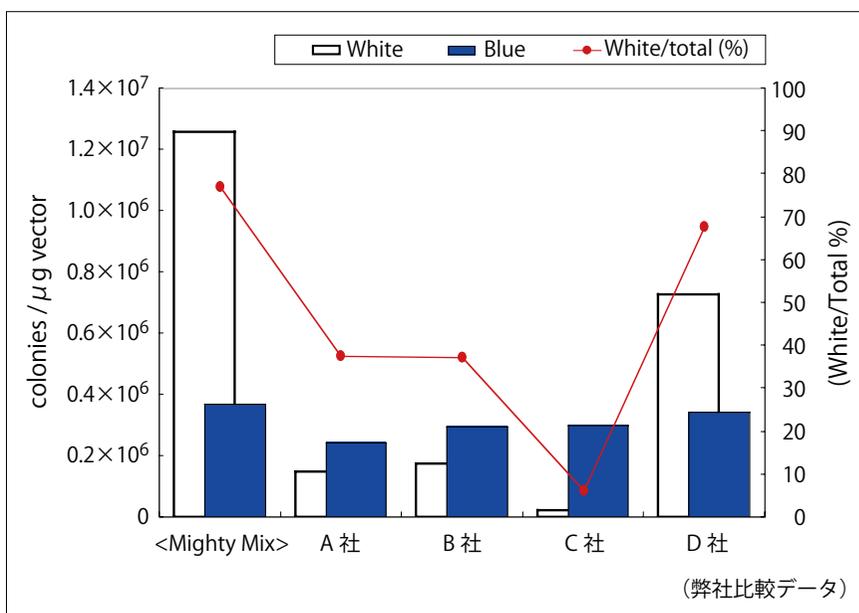


図 5. T-Vector への PCR fragment のライゲーション

PCR 産物のクローニングの際によく行われる T-Vector へのライゲーションにおいて、他社製品に比べて効率良く陽性クローンを得ることができました。

[3] 直鎖状 DNA の分子内ライゲーション (self circularization) の場合

※使用方法は、「【1】プラスミドベクターに外来 DNA を挿入する場合」と同じです。

<使用例> pUC118 *Hinc* II 断片のセルフライゲーション

方法：pUC118 を *Hinc* II 消化した DNA 断片 (250 ng、5' 末端リン酸化) をプロトコールに従って 16°C で 30 分反応させた。この反応液の一部で *E. coli* JM109 コンピテントセル (1.1×10^9 cfu/ μ g pUC118) 100 μ l を形質転換した。

結果：

DNA 量	形質転換効率 (cfu/ μ g vector)
17 ng	1.2×10^7

[4] Linker Ligation, Adaptor Ligation の場合

● プラスミドベクターにリンカーを挿入する場合

プラスミドベクターへの外来 DNA の挿入の方法と同じです。

脱リン酸化ベクターにリン酸化リンカーを挿入する場合は、リン酸化リンカーをベクターの 10 ~ 1,000 倍量 (モル比) 加えて反応してください。脱リン酸化していないベクターを用いる場合には、100 倍以上のリンカーを加えて反応してください。

● DNA 断片の両末端にリンカー (またはアダプター) を結合する場合 (cDNA リンカーライゲーションなど)

- (1) 結合したい DNA フラグメント (10 ~ 100 fmol) の 100 倍量以上のリンカー (またはアダプター) (モル比) を加えた溶液 5 ~ 10 μ l を用意する。
- (2) (1) の DNA 溶液の 2 倍容量 (10 ~ 20 μ l) の Ligation Mix を加えよく混合し、16°C で 30 分間反応させる*。
- (3) その後、制限酵素での切断を行う場合は、一度エタノール沈殿により DNA を回収して、バッファー交換した後行う。

*：リンカーが不安定な構造 (AT 配列が多い、短い (~ 8 base) リンカー) の場合には、反応温度を下げ (< 10°C) 1 ~ 2 時間反応してください。

<使用例> プラスミドベクターへのリンカーの挿入

方法：pUC118 *Hinc* II/BAP 脱リン酸化済みベクター (製品コード 3322) (50 ng、25 fmol) に、130 ng (25 pmol) の p*Bg*II リンカー dp (CAGATCTG) (製品コード 4621P; 終売) を加え、10 μ l とした DNA 溶液を調製した。プロトコールに従って、16°C で 30 分間反応した。この反応液の一部で *E. coli* JM109 コンピテントセル (8.4×10^8 cfu/ μ g pUC118) 100 μ l を形質転換し、X-Gal、IPTG を含む L-amp プレート上でコロニーを形成させ、コロニー数を計測して形質転換効率を調べた。

結果：

Linker / Vector モル比	cfu (White) / μ g vector
0	5.3×10^5
1,000	4.5×10^7

【5】λファージベクターに外来 DNA を挿入する場合

- (1) λファージベクター [250 ng (10 fmol)] およびインサート DNA (30 ~ 100 fmol) を含む DNA 溶液を用意する。
- (2) (1) の DNA 溶液の 2 倍容量の Ligation Mix (5 ~ 10 μl) を添加して、よく混合する。
- (3) 26°C で 5 ~ 10 分間*¹ 反応する。
- (4) *in vitro* packaging を行う*²。

* 1 : 反応温度は、16°C よりも 26°C の方が高い効率が得られます。反応時間を長くしても、かえって効率が落ちる場合がありますので、反応は短時間 (5 ~ 10 分間) で行ってください。

* 2 : DNA Ligation Kit 溶液は、反応後そのままパッケージングに用いることができます。市販の Packaging Kit [MaxPlax Lambda Packaging Extracts (EPICENTRE Technologies 社)、GigaPack (Agilent Technologies 社) など] を使用しても、パッケージングに用いる DNA Ligation Kit の溶液量が packaging lysate に対して 10% 以下 (容量比) の場合は、DNA Ligation Kit 溶液の組成がパッケージングを阻害することはありません。通常、1 回のパッケージングに、DNA Ligation Kit 溶液 4 μl まで用いることができます。

反応溶液をすべてパッケージングに用いる場合は、DNA を一度エタノール沈殿した後、packaging lysate に対して 10% 以下 (容量比) の TE バッファーに溶解してお使いください。

DNA Ligation Kit <Mighty Mix> を使用してパッケージングを行う場合のご注意

DNA Ligation Kit <Mighty Mix> を使用した場合の効率は、DNA Ligation Kit Ver.1 (製品コード 6021) を使用した場合の効率とほぼ同じになります。<Mighty Mix> の場合、反応液の容量がもとの DNA 溶液の 3 倍になりますが、Ver.1 の場合、もとの DNA 溶液の 2 倍です。パッケージングに用いることができる溶液量には* 2 のような制限がありますので、DNA Ligation Kit 溶液そのままをパッケージングに用いる場合は、多くの DNA 量を用いることができる Ver.1 のご使用をお勧めいたします。

<使用例> λファージベクターを用いた *in vitro* packaging

方法 : *Eco*RI、*Sal*I 切断済 Uni-ZAP XR vector (Agilent Technologies 社) 1 μg (1 μl) に、*Eco*RI、*Sal*I 切断 pBR322 DNA 400 ng を加えた DNA 溶液 (3.3 μl) をプロトコールに従って、Total 10 μl で 26°C、10 分間反応を行った。ライゲーション反応液 10 μl 中 2.5 μl を使用して GigaPack III Gold (Agilent Technologies 社) および MaxPlax Lambda Packaging Extracts (EPICENTRE Technologies 社) を用いてパッケージングを行い、プラークを形成させた。

結果 :

	パッケージング試薬	プラーク数 / μg Uni-ZAP Vector
DNA Ligation Kit <Mighty Mix>	GigaPack III	2.6 × 10 ⁶
	MaxPlax	5.5 × 10 ⁶
DNA Ligation Kit Ver.1	GigaPack III	6.0 × 10 ⁶
	MaxPlax	9.2 × 10 ⁶

IV. 安定性

本製品の凍結融解による効率の変化を、pUC118 *Hind* III/BAP vector と 564 bp の *Hind* III 断片とのベクターライゲーションで確認しました。
50回凍結融解を繰り返しても、効率の低下は見られませんでした。

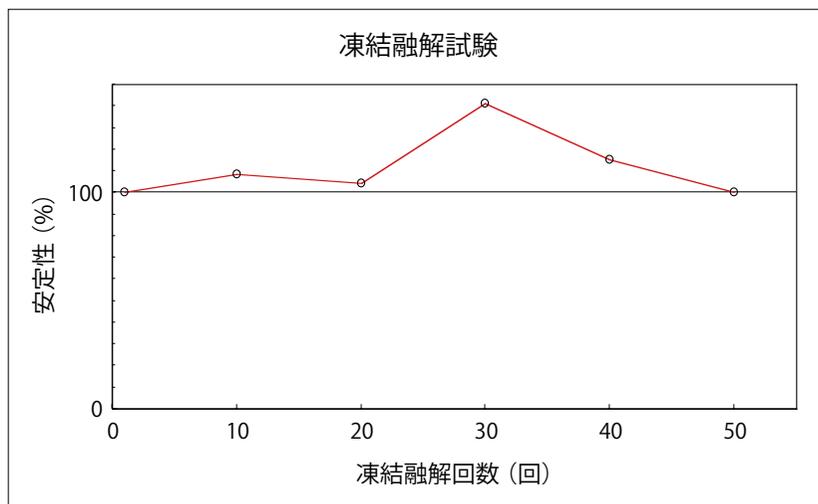


図 6. 本製品の凍結融解がライゲーション効率に及ぼす影響

V. Q&A

Q1：ライゲーションがおこりにくく、形質転換効率が悪い場合に効率を高める方法は？

A1：・ライゲーションの反応時間を overnight まで延長してください。
・平滑末端のベクターライゲーションの場合は、DNA 溶液の塩濃度が高いとライゲーション効率が低下します。ライゲーションに用いる DNA 溶液は、可能な限り塩を除いてください。
・突出末端のライゲーションの場合、DNA 溶液（ベクター＋インサート DNA）を 60～65℃ で 2～3 分保温後、急冷してから Ligation Mix を加え反応を行ってください。ライゲーションに有効な突出末端が確保され、形質転換効率が改善される場合があります。
上記の操作で改善されない場合は DNA の再精製をお勧めします。

Q2：エレクトロポレーションにより形質転換する時、ライゲーション反応液をそのまま使用できますか？

A2：効率が低下する場合がありますので、そのままエレクトロポレーションには使用できません。エタノール沈殿等のバッファー交換をしてからエレクトロポレーションにご使用ください。

Q3：コスミドにライゲーションするときの方法は？

A3：通常のプラスミドのようにコンピテントセルで形質転換を行う場合は、「【1】プラスミドベクターに外来 DNA を挿入する場合」に従って操作してください。
ただしパッケージングを行う場合は「【5】λファージベクターに外来 DNA を挿入する場合」に従ってください。

Q4：制限酵素反応後の溶液をそのまま Ligation Kit の系に持ち込むことができますか？

A4：エタノール沈殿してから TE バッファーに溶解し直す方が望ましいでしょう。逆にライゲーション後の反応液を制限酵素処理する場合にもエタノール沈殿してから反応を行ってください。

Q5：DNA Ligation Kit で反応後、反応液をエタノール沈殿する際、通常通り塩 (NaCl 等) を加えてもよいですか？

A5：DNA Ligation Kit で反応後は、通常通り塩 (NaCl；終濃度 150 mM、酢酸アンモニウム；終濃度 2 M、酢酸ナトリウム；終濃度 300 mM) を加えてから、エタノール沈殿を行ってください。

Q6：DNA Blunting Kit (製品コード 6025) 中の Ligation Solution A 液、B 液は、DNA Ligation Kit <Mighty Mix> で代用できますか？

A6：DNA Blunting Kit (製品コード 6025) 中の Ligation Solution A 液、B 液は、DNA Ligation Kit Ver.1 と同じ組成です。DNA Ligation Kit <Mighty Mix> は Ver.1 よりも反応スケールを落とすために、DNA 溶液と等量の Ligation Mix を混合するように設計されています。そのため、DNA 溶液の組成による影響を受けやすく、DNA Blunting Kit 中の Ligation Solution A 液、B 液の代わりに Ligation Kit <Mighty Mix> を使用するとライゲーションされない事があります。<Mighty Mix> をお使いになる際は、DNA 溶液を一度フェノール抽出、エタノール沈殿を行った後に反応に使用してください。

Q7：アガロースゲルから回収した DNA 断片を用いるとライゲーション効率が悪い。

A7：カラムやシリカゲルを用いる市販の DNA 抽出キットの場合、カラムやゲルからの抽出液をそのままライゲーション反応に用いると、効率が悪くなります。最終的に得られた抽出液は必ず一度エタノール沈殿を行い、TE バッファーなどに溶解後、ライゲーション反応に用いてください。

VI. 使用上の注意

- (1) Ligation Kit 溶液は、 -20°C では凍結品になっていますが、凍結融解による失活はありません。ご使用前に氷冷水中で融解し、ピペティング等によりよく混合してください。
- (2) DNA を本製品で反応させた後、電気泳動のサンプルとして用いる場合、アガロースゲルではそのまま泳動できますが、ポリアクリルアミドゲルでは、一度エタノール沈殿してから泳動を行ってください。
- (3) 反応後、直接フェノール抽出を行った場合、反応液が白濁することがあります。
- (4) ライゲーション反応後にエタノール沈殿を行う場合は、反応液の 1/10 倍量の 3 M 酢酸ナトリウム (pH5.2) または反応液の 1/20 量の 5 M NaCl と 2 ~ 2.5 倍量のエタノールを加え、 -20°C 、20 分または -80°C 、10 分で保冷した後、 4°C で遠心し DNA を回収してください。また、DNA が微量の場合、キャリアを使用するのも有効です。

VII. 参考文献

Hayashi K, Nakazawa M, Ishizaki Y, Hiraoka N, and Obayashi A.
Nucleic Acids Res. (1986) **14**: 7617-7631.

VIII. 関連製品

T4 DNA Ligase (製品コード 2011A/B)
DNA Ligation Kit Ver.1 (製品コード 6021)
TaKaRa DNA Ligation Kit LONG (製品コード 6024)
PrimeGel™ Agarose LE 1-20K GAT (製品コード 5801A)
PrimeGel™ Agarose LMT PCR-Sieve GAT (製品コード 5815A)
T-Vector pMD20 (製品コード 3270)
T-Vector pMD19 (Simple) (製品コード 3271)
pUC118 *Hinc* II/BAP (製品コード 3322)
pUC118 *Hind* III/BAP (製品コード 3324)
E. coli HST08 Premium Competent Cells (製品コード 9128)
E. coli HB101 Competent Cells (製品コード 9051)
E. coli JM109 Competent Cells (製品コード 9052)

IX. 注意

- 本製品は、研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断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。
- PrimeGel はタカラバイオ株式会社の商標です。その他、本説明書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。

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

タカラバイオ株式会社