T-Vector pMD™ 20

Code No. 3270

包装量: 1 μg 浓度: 50 ng/μl

*自收到之日起,适当条件下保存,两年内有效。

制品说明

T-Vector pMD20 是两侧的 3'端添加了"T"的线性化载体,因大部分耐热性 DNA 聚合酶进行 PCR 反应时都有在 PCR 产物的 3'末端添加一个"A"的特性,所以使用本制品可以大大提高 PCR 产物的连接、克隆效率。本载体在 pUC19 载体的基础上对 *LacZ* 基因的编码序列进行了改造,大大降低了假阳性率,增强了蓝色菌落在含有 X-Gal、IPTG、Amp 的 L-琼脂平板培养基上的显色效果,提高了阳性克隆的筛选成功率。由于在 *LacZ* 基因编码区上游插入了 SP6 Promoter,因此可以通过 SP6 RNA Polymerase (Code No. 2520)对插入 DNA 片段直接进行体外转录实验。本制品中的 Control Insert(500 bp)还可以用于 Control 反应。

制品内容

T-Vector pMD20 (50 ng/μl) 20 μl Control Insert (50 ng/μl) 10 μl

保 存: -20℃

实验例

1. 在微量离心管中配制如下反应液(总体积为5 µI)。

T-Vector pMD20

1 µ1

PCR产物或Control Insert

1 μ I (0.1 – 0.3 pmol)*

灭菌水

3 μΙ

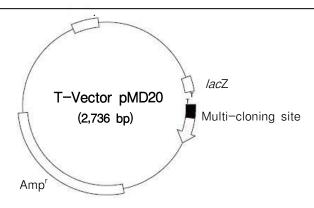
- 2. 向以上的DNA溶液中加入等体积(5 μI)DNA Ligation Kit <Mighty Mix> (Code No. 6023),充分混匀。
- 3. 16℃温育30分钟。
- 注: (1) 5 分钟也能正常进行连接反应, 但反应效率稍微降低。
 - (2) 长片段 PCR 产物(2 kb 以上)进行 DNA 克隆时,连接反应时间请延长至数小时。
- 全量(10 μl)加入至100 μl E.coli感受态细胞中,轻柔混合然后冰中放置30分钟。
- 5. 42℃水浴加热 45 秒钟后,迅速转入冰中放置 1 分钟。
- 6. 加入 890 µ I SOC 培养基, 37℃振荡培养 60 分钟。
- 7. 取 100 µl 转化液涂在含有 X-Gal、IPTG、Amp 的 L-琼脂平板培养基上 37℃过夜培养。
- 8. 挑选白色菌落, PCR 验证。
- * Control Insert 为 500 bp 的 3' 末端带有 A 碱基的 PCR 产物, Control Insert 1 µI (50 ng) 的摩尔数约为 0.15 pmol。在进行克隆时, Vector DNA 和 Insert DNA 的摩尔比一般为 1: 2~10。

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在Takara Bio Inc.网站中下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php.

M13 primer RV SP6 promoter TTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCT ATTTAGGTGACACTATA AACACTC GCCTATTGTTAAAGTGTGTCCTTTGTCGATACTGGTACTAATGCGGTTCGATAAATCCACTGTGATAT Sse8387 I Sph I Pst I Acc I Xba1 Spe I Nde I GGGGAAAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCTACTAGTCATATGGATT3 ATC (cloned insert) CCCCTTTCGAACGTACGGACGTCCAGCTGAGATCTCCTAGATGATCAGTATACCTA 3' TTAG Sma I Ava I *Bam*H∣ Kpn I Sac I EcoR I GGATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCG CCTAGGGGCCCATGGCTCGAGCTTAAGTGACCGGCAGCAAATGTTGCAGCACTGACCCTTTTGGGACCGC M13 primer M4



注音

本产品仅供科学研究使用,不能用于人、动物的医疗或诊断程序,不能 使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准,不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品,或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权,请联络我们,或访问我们网站www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并 遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注 册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作,最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品,您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

宝日医生物技术(北京)有限公司

网址: https://www.takarabiomed.com.cn

技术咨询电话

4006518761 4006518769