

部位特異的変異導入キット

KOD -Plus- Mutagenesis Kit

コンピテントセル
とセットで
さらにお得に!

KOD -Plus- を用いたInverse PCR法に基づく部位特異的変異導入キットです。幅広い変異導入が可能です。

本製品は、KOD -Plus-の高い正確性を活かした、Inverse PCR法に基づく部位特異的変異導入キットです。Inverse PCR法では、プラスミドを鋳型として、逆向きに設定したプライマーを用いてPCRを行い、プラスミド全周の増幅を行います。その際、導入したい変異や挿入配列を付加したプライマーを用いることにより、様々な変異を導入することができます。本製品には、形質転換までに必要な全ての試薬および詳細なプロトコールが含まれています。

特長1 幅広い変異導入に対応

- ・ Inverse PCR法の採用により、数bpの置換、挿入、欠失のみでなく、数10bpの挿入 (Tagの導入) や数100bpの欠失等にも対応可能です。また、特定部位のアミノ酸を20種類のアミノ酸に置換するなどのアミノ酸点変異ライブラリーの作製 (Saturation Mutagenesis) も可能です。

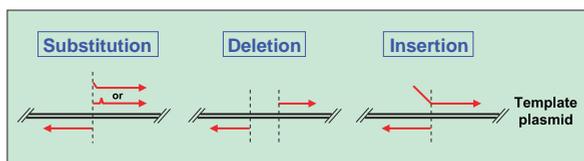


図1. 置換、欠失、及び挿入の各変異導入プライマー設計例

特長2 確実な変異導入

- ・ 最大95%の変異導入効率が見られます。また、KOD -Plus-の採用、およびPCRサイクル数を最小限に設定するなど条件の最適化により、2nd-site mutation (目的とする変異以外の変異) が入る可能性を最小限にしています。最長約11kbのプラスミドで変異導入を確認済みです。

特長3 簡単プロトコール*

- ・ 本製品では、PCR産物のSelf-ligationを、KinaseとLigaseを同時に反応させて行います。従って、PCR Primerのリン酸化は不要です。また、形質転換まで3ステップの簡単なプロトコールとなっています (図2)。

* 特許出願中

一口メモ

- KOD -Plus-は、KOD DNA polymeraseに、常温で活性を抑える2種類の抗体を加えたホットスタート対応型高正確性PCR用酵素です。Taq DNA polymeraseの約80倍の正確性 (fidelity) を有し、正確性を要するPCRに最適です。
- 制限酵素 *Dpn* IIは、メチル化されたDNAを基質として切断します。通常メチラーゼを発現している大腸菌 (JM109 やDH5 α) から得られたプラスミドは、*Dpn* Iサイトがメチル化されており、本酵素を用いて選択的に分解することができます。

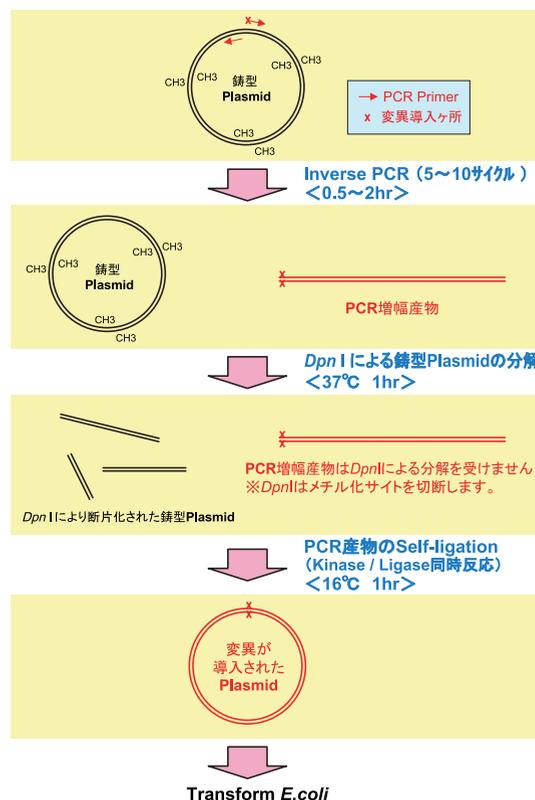


図2. KOD -Plus- Mutagenesis Kitを用いたInverse PCR法による変異導入フロー

品名	包装	保存温度	Code No.	価格
KOD -Plus- Mutagenesis Kit*	20回用	-20°C	SMK-101	¥38,000
Competent high DH5 α <small>関連商品</small>	100 μ l \times 10本	液体窒素、-20°C	DNA-903	¥17,000
NEW KOD -Plus- Mutagenesis DH5 α Set**	1セット	液体窒素、-20°C	SMK101/DNA903	¥52,250 5%OFF

* 本製品には、以下の試薬が含まれています。KOD -Plus-, 10x Buffer for iPCR, 2mM dNTPs, *Dpn* I, T4 Polynucleotide Kinase, Ligation high, Control Plasmid, Control Primer #1, Control Primer #2.

**KOD -Plus- Mutagenesis DH5 α Set (Code No.SMK101/DNA903)は、KOD -Plus- Mutagenesis Kit (¥38,000→¥36,100)と Competent high DH5 α (¥17,000→¥16,150)のセット販売です。