

2×重组克隆 Mix 1.0

使用前请仔细阅读说明书

保存：-20℃保存一年

本重组克隆是一种高效快速的 DNA 定向克隆技术。该试剂盒可以在线性化的载体中插入一个或者多个目的 DNA 片段，目的片段两端只需要与载体末端有 15-20bp 的同源序列（插入多片段即需要相邻片段尾首端有 15-20bp 的同源序列），15-30 分钟以内可以实现 2-5 个片段的重组插入，克隆阳性率高。

产品组成

组分名称	SC-01	SC-02
2×重组克隆 Mix	200 μL	500 μL

基因克隆操作

1、载体和目的片段制备：

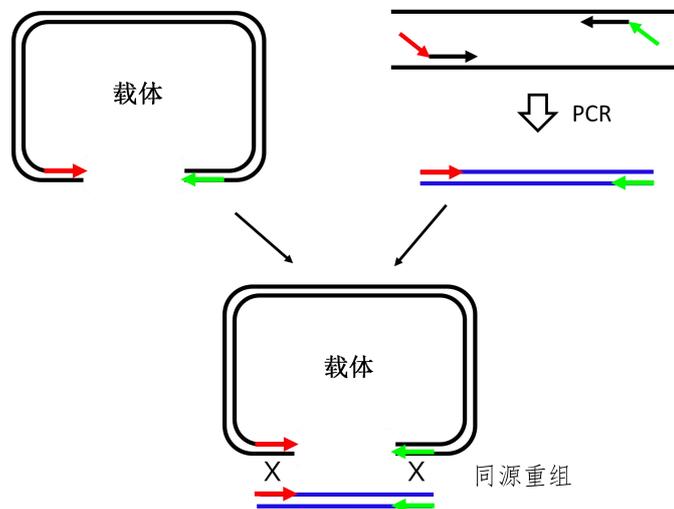


图 1. 无缝克隆需要准备的线性载体和目的片段

(1) 载体制备

使用限制性内切酶酶切质粒得到线性载体，需要尽量酶切完全然后切胶回收；使用 PCR 扩增线性载体，以质粒为模板扩增的 PCR 产物应使用 **Dpn I** 消化后再纯化或胶回收。（推荐使用本公司 2×Pfu Mix PCR 制备线性载体）



(2) 目的片段制备

设计目的片段的 PCR 引物，根据图 1 模式在引物 5'末端分别加上 15-20 nt 载体末端序列，确保 PCR 产物末端和载体末端各有一段同源序列。

2、重组反应以及转化（推荐用量）：

线性载体	载体 20-50 ng
目的片段	插入目的片段与载体摩尔比为 2:1 - 5:1（比如载体 3kb，片段 1kb，载体和片段各加 30 ng）
2×重组克隆 Mix	10 μ L
ddH ₂ O	加至总体积 20 μ L

混匀，40°C 反应 15-30 分钟，反应结束后，将离心管置于冰上准备转化（如不能及时做转化，可以冻存在-20°C）。



微信公众号

网址：www.ruoyubio.com
邮箱：service@ruoyubio.com

湖南若鱼生物科技有限公司
Hunan Ruoyu Biotech Co., Ltd.