

Version 26.06

YALEPIC® 通用型无缝克隆重组试剂盒

YALEPIC® Universal Seamless Cloning Assemble Kit

产品货号

YTD38001

产品保存及运输条件

- 20℃ 储存, ≤ 0℃ 运输。

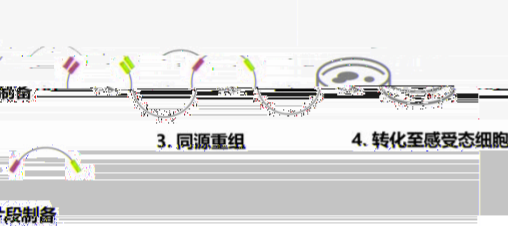
产品概述

YALEPIC® Universal Seamless Cloning Assemble Kit 是基于同源重组原理开发的一步法单片段/多片段通用型等温无缝克隆试剂, 属于非连接酶依赖型体系, 载体自连背景极低, 可

显著提高克隆的重组效率及对杂质的耐受程度, 制备的高纯度线性化载体和插入片段可不纯化直接用于重组克隆。本产品可快速、定向、准确

技术原理

A. 单片段克隆重组原理



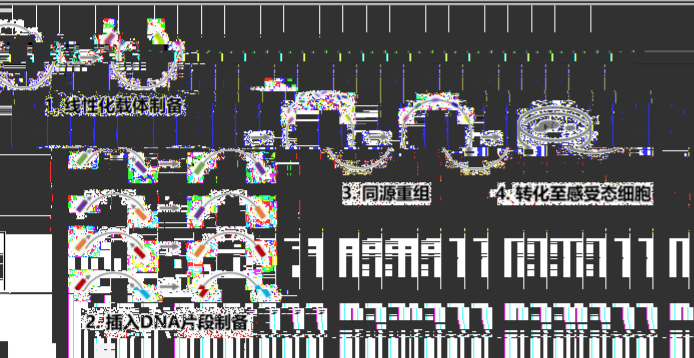
段, 或多至 11 个顺序拼接的片段) 定向重组至任何载体的任何位点, 50℃, 5 ~ 15 min 即可完成重组, 不受酶切位点限制, 载体末端与插入片段末端以及相邻插入片段末端之间需要 15-

25bp 能够相互匹配即可。本

产品可兼容高、中、低拷贝数质粒和 DNA 文库。

对于文库扩增等应用, 阳性克隆率达 95%。

多片段克隆重组原理图



产品组成

组分	规格
2×YALEPIC® Universal Seamless Cloning and Assembly Master Mix	500 μl
Control (Linearized plasmid + Insert fragment, Amp ^r)	

实验流程

● 线性化载体制备

选择合适的克隆位点对载体进行线性化。尽量选

注:

注:

65℃ 为宜; 左右; 载体与插入片段的最佳摩尔比为 1:2。

1) 对于可扩增片段, Tm 值 60℃

的末端序列, 载体、片段的长度大于 300bp, 则须加上 5'

2) 对于非扩增同源序列两端线性化

GC 含量 40% ~ 60% 为佳。

载体的摩尔比应调整为 5:1。

列 (用于同源重组)

度时, 只需计算基因特异性扩

B: 多个片段连接时, 建议片段间的摩尔比为 1:1。

2) 计算扩增引物退火温

入的同源序列及酶切位点不应

C: DNA 摩尔数与质量换算式: $\text{pmols} = (\text{重量}) \times$

增序列的 Tm 值, 引

$1000 / (\text{base pairs} \times 650 \text{ daltons})$; 例如, 200 ng

参与计算。

重组产物转化

注意事项

1. 将感受态细胞与重组产物混合，轻轻混匀，冰上静置 30 min。可提高克隆效率。

2. 加入 900 μ l LB 等液体培养基 (不添加抗生素)，37 $^{\circ}$ C 培养 50 min。1h。

3. 将菌液 5,000 rpm 离心 5 min，弃去 800 μ l 上清液。

4. 反向 PCR 扩增制备线性化载体或外源片段。6. 平板上长出的克隆可以直接用于快速的鉴定。

5. 将菌液 5,000 rpm 离心 5 min，弃去 800 μ l 上清液。

注：重组产物转化体积最多不应超过所用感受态细胞的 1/10。

1. 菌落/菌液 PCR 鉴定：用枪头挑取单菌落至 10-100 μ l 的 DNA 很少，不推荐使用乙醇直接沉淀，可先用 100 μ l 的 DNA 溶液处理。

2. 质粒抽提：挑取单菌落至 25 μ l 的 DNA 溶液处理。

3. 质粒抽提：挑取单菌落至 25 μ l 的 DNA 溶液处理。

4. 质粒抽提：挑取单菌落至 25 μ l 的 DNA 溶液处理。

5. 质粒抽提：挑取单菌落至 25 μ l 的 DNA 溶液处理。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断