

T载体快速克隆试剂盒

使用说明书 (Ver.0.0.1)

产品特点

- ◇ 进行 TA 克隆，克隆 PCR 产物。
- ◇ 对克隆后的 PCR 产物使用 BcaBEST Sequencing Primers、M13 Primers 进行 DNA 测序。

产品货号：

JSR-E-402 (20 次)



扫描二维码了解更多产品信息

目录 Contents

产品组份	1
产品特性	1
操作步骤	1
◇ 操作方法	1
◇ 结果	2

产品组份

试剂盒组成	规格（20 次）	保存
T4 DNA Ligase （600 U/μl）	20 μl×1 支	-20℃
T Vector （50 ng/μl）	20 μl×1 支	-20℃
Control Insert （50 ng/μl）	10 μl×1 支	-20℃
10 × Ligase Buffer	20 μl×1 支	-20℃
无 DNase/RNase 水	1ml×1 支	-20℃

产品特性

- ✧ 本产品所用 T 载体是一种高效克隆 PCR 产物（TA Cloning）的专用载体。
- ✧ 本制品中的高效连接反应体系可以在短时间内（约 30 分钟）完成连接反应，其连接产物可以直接用于细菌转化，大大方便了实验操作。

操作步骤

A) 操作方法

- 1) 在微量离心管中配制下列 DNA 溶液，全量为 10 μl。

名称	体积 (μL)
无 DNase/RNase 水	up to 10μL
10 × Ligase Buffer	1μL
Control Insert	片段与载体的分子摩尔比应在 3:1-10:1
T Vector	50-100ng
T4 DNA Ligase(Rapid)(600 U/μl)	1μL

- 2) 22℃反应 30 分钟。

注： ① 室温（25℃）也能正常进行连接反应，但反应效率稍微降低。

② 5 分钟也能正常进行连接反应，但反应效率稍微降低。

- 3) 全量（10 μl）加入至 100 μl JM109 感受态细胞中，冰中放置 30 分钟。

- 4) 42℃加热 45 秒钟后，再在冰中放置 1 分钟。

- 5) 加入 890 μl SOC 培养基，37℃振荡培养 60 分钟。

6) 在含有 X-Gal、IPTG、Amp 的 L-琼脂平板培养基上培养，形成单菌落。计数白色、蓝色菌落。

7) 挑选白色菌落，使用 PCR 法确认载体中插入片段的长度大小。

B) 结果

使用 Control Insert 时的连接/转化结果如下，使用的感受态细胞的转化效率为： 1.5×10^8 cfu/ μ g pUC19 DNA。

Control Insert	连接/转化效率 (cfu/ μ g Vector)	白色菌落比率 (%)	效率 (%) *
+	2.8×10^6	96.3	90 以上
--	2.2×10^5	40.2	0

注：效率是指白色菌落中的目的 DNA Insert 片段的连入效率。