

Blunt 载体零背景 pTOPO 平末端克隆试剂盒

货号：AC17177

规格：20T/100T

保存：-20℃，1 年

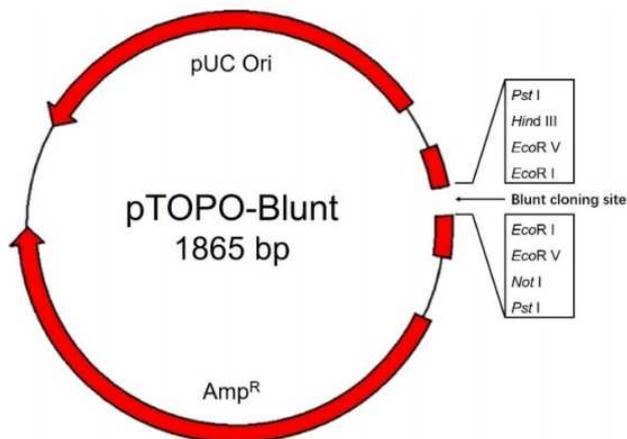
产品说明：

本产品采用拓扑异构酶 I (Topoisomerase I) 的连接原理，不同于使用 T4 DNA 连接酶的传统克隆方法，可在数分钟甚至数秒内高效连接 DNA 片段。有效连接片段长度可达 10 kb。此外，本产品无自连、零背景，无需蓝白斑筛选，阳性克隆比例高，极少出现空载体，是简单、快速、零背景免筛选的 TOPO 平末端克隆载体。同时，本产品提供 1 kb 的 DNA 片段 (1 kb Control) 作为连接反应的阳性对照。DNA 测序可采用 M13 Forward 和 M13 Reverse 通用型引物。

产品组份：

组分	浓度	规格
pTOPO-Blunt Vector	30 ng/μL	20 μL x 5
10×Enhancer	--	20 μL x 5
1 kb Control	30 ng/μL	5 μL

载体图谱和序列：



pTOPO-Blunt 载体通用测序引物序列：

M13F: TGTA AACGACGGCCAGT

M13R: CAGGAAACAGCTATGACC

- 3) 42℃加热 45-60 s 后，冰浴 2 min，该过程不要摇动离心管。
- 4) 加入 800 μl SOC 或 LB 培养基，37℃振荡培养 40-60 min。
- 5) 将菌液均匀涂布到含 100 μg/ml 氨苄青霉素 (Amp) 的 LB 琼脂平板，37℃培养 12-16 h。

4. 转化子筛选鉴定 (仅供参考):

1) 菌落/菌液 PCR: 可选用 M13 Forward 和 M13 Reverse 通用型引物或基因特异性引物进行菌落/菌液 PCR 扩增。应尽可能设立阳性对照和阴性对照反应。

2) 酶切鉴定: 挑取白色正常菌落，摇菌抽提质粒。插入片段较大的情况下，可直接电泳观察质粒大小即可鉴定出是否含有插入片段; 也可用 EcoR I/EcoR V 单酶切释放插入片段或用其它合适的内切酶酶切，琼脂糖凝胶电泳检测片段大小，确定是否含有目的片段。

3) DNA 测序: 选用 M13 Forward 和 M13 Reverse 通用型引物进行测序鉴定。

注意事项:

1. 连接反应如果使用 5 μL 体系连接，各成分按照比例减半使用，使用次数可以加倍。
2. 本载体推荐 20-37℃放置 5 min 完成连接，但多数情况下连接 2-3 min 已经可以得到足够多的转化子。
3. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
4. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。

