



2x 快速连接缓冲液

描述: 本试剂可在室温(22°C) 10 分钟条件下, 迅速完成 DNA 片段粘端或平滑端连接反应。可用于 DNA 片段克隆, 文库构建, TA 克隆, Linker 连接等。

组成: 50 次 (0.5ml)

Cat.No.:SGB001 2 x 快速连接缓冲液 500ul

价格: 200.00 元

储存: 收到后-20°C 保存, 避免反复冻融。

快速连接反应:

1. 建立反应体系如下:

2 × Rapid Ligation Buffer	10ul
Vector DNA (50~100 ng)	Xul
Insert DNA (~3 molar ratio of Vector DNA)	Yul
T4 DNA ligase	1ul
ddH ₂ O	Zul
Total volume	20ul

2. 充分混匀, 瞬时离心将液体甩到管底。

3. 室温 (22°C) 反应 10 分钟。延长并不明显增加连接效果。

4. 可直接转化感受态细菌, 或-20°C 冻存。

5. 取 2-5μl 冷却的快速连接混合物, 加入自制或购买的感受态细胞, 混匀。根据所用菌株 和感受态细菌制备方法, 选用相匹配的方法进行转化。

说明:

1. 在 20μl 反应体系内载体 DNA 约为 50-100 ng。插入 DNA 片段的量约为载体片段的 3-6 倍摩尔量。总的载体和插入片段 DNA 浓度应在 1-10 ng/μl 之间。过多的 DNA 常常会增加阴性克隆本底。如不能确定 DNA 片段浓度, 可以不同的比例做几个连接反应。

2. 转化前不要热灭活连接酶, 否则将降低转化效率。

3. 转化时加入 <5μl 的快速连接反应物, 否则将降低转化效率。

Add: Floor 2 ,Building A,328# Wuhe Road, Shanghai 200233 China

Tel: +86-21-54460832

Fax:+86-21-54460831

Web: www.synthesisgene.com

E-mail: master@shinegene.org.cn

4. DNA 片段体积大于 10 μ l 的, 可相应增加 2 \times Rapid Ligation Buffer 和总反应体积, 同样 DNA 连接酶的量也要加大。



Shanghai ShineGene Molecular Bio-tech Co.,Ltd.

Add: Floor 2, Building A, 328#, Wuhe Road, Shanghai, 201109, China

Tel: +86-21-54460832

Fax: +86-21-54460831

E-mail: master@shinegene.org.cn

WebSite: www.synthesisgene.com

