



SinoMol Zero Blunt Cloning Kit

产品货号：KBT101

保存条件：-20°C 保存 9 个月

产品介绍：

SinoMol Zero Blunt Cloning Kit 利用拓扑异构酶 I (Topoisomerase I) 快速切割再连接的特点将片段克隆到载体中。本产品适用于克隆平末端的 PCR 产物。引物 M13F 和 M13R 可用于进行菌落 PCR 鉴定阳性克隆。

产品特点：

- (1) 连接反应仅需 5 分钟；
- (2) 适用于平末端的 PCR 产物；
- (3) 载体采用了新的制备工艺，零背景，无需蓝白斑筛选。

注意事项：

- (1) 片段的选择：高保真系列 DNA 聚合酶扩增的 PCR 产物；
- (2) 引物要求：PCR 引物 5' 端不能进行磷酸修饰，普通商业化引物即可。
- (3) 产物要求：为保证 PCR 产物完整，建议 72°C 后延伸 5-10 分钟。反应结束后，用琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物的质量和纯度，如 PCR 产物条带单一且无引物二聚体，可直接进行连接，如 PCR 产物为非单一性条带，目的片段一定要切胶回收。

操作步骤：

1. 反应体系

按下表，在一个 0.2ml PCR 管中依次加入：

成分	体积
DNA 片段	0.5~4.5 μ l
SinoMol Zero Blunt Vector	0.5~1 μ l
补水至总体积	5 μ l

加完试剂后，轻弹管底混匀，低速离心使溶液集中在管底。**注意：此步骤不要在低温条件下（冰水浴）上操作。**

2. 反应条件

室温下（20-30°C）放置 5 分钟，反应结束后将离心管放置在冰上。

如当天不进行转化实验，请将连接产物置于-20°C 保存。

最佳片段用量见下表。如 PCR 产物电泳检测仅有明亮的单一条带，且无引物二聚体，可取 0.5-1 μ l 的 PCR 产物原液直接连接。

片段大小 (bp)	最佳用量 (ng)
100-1000	10-50
1000-2000	50-100
2000-5000	100-150

3. 转化

如果使用的是商品化的感受态细胞，插入片段不超过 2kb，选择快转步骤；如果使用的是实验室自制的转化效率

