S6 HiPer Gateway LR Clone Kit 使用说明书

产品名称	单位	货号
S6 HiPer Gateway LR Clone Kit	20T	S6962-01
S6 HiPer Gateway LR Clone Kit	4x20T	S6962-04

【储存条件】

在-80°C 环境中保存。使用时请置于冰上融解并一直保持低温状态。

【产品简介】

Gateway 克隆系列产品是一种崭新的高通量基因克隆技术，可以简单高效地把入门载体 (The EntryClone) 克隆到多种目的载体 (Destination vector) 中。Gateway 克隆技术无需依赖限制性内切酶和连接酶的传统克隆技术，而是利用天然的 λ 噬菌体与大肠杆菌 (E. coli) 的染色体之间产生的位点 (att)特异性的重组整合，使 DNA 片段在不同的克隆载体之间实现转移。

Gateway 克隆重组技术具有可靠的稳定性，当基因在重组目的表达载体之间快速简便地穿梭时，可以保证基因以正确的方向插入并保持阅读框架不发生改变。

Gateway LR Clone Kit 可以将所选基因克隆到多种表达目的载体中。此 LR Clone Enzyme 与基因文库里的各种人、小鼠和大鼠的 ORF 载体相兼容，或者您也可以使用 BP 克隆试剂盒(Cat. No. S6961-01/04) 来构建适合您自己的入门载体 (The Entry Clone) 。Gateway 克隆体系在细菌转化这个环节使用正向筛选(抗生素)和负向筛选(ccdB 致死基因)两种筛选，以确保得到高比例的阳性重组。

【产品特色】

灵活便捷：易于把基因克隆到带有不同启动子和标记的多种载体。

方便快速：最大化缩短实验前计划时间，无需限制性内切酶和连接酶。

准确无误：基因以正确的方向插入并保持阅读框架不发生改变。

无需测序：一旦入门载体 (The Entry Clone) 被建立，就可以使用 Gateway 克隆系统克隆至任意 Gateway 目的载体 (Destination vector) ，无需担心引入突变。

【产品组分】

	S6962-01	S6962-04
2X Gateway LR Clone Enzyme mix	100 μl	4x100 μl
Positive Control Entry Vector	30 μl	4x30 μl
Positive Control Destination Vector	20 μl	4x20 μl
10X Proteinase K Solution	20 μl	4x20 μl

【使用方法】

1. 入门载体 (The Entry Clone) ：

从 Invitrogen 购买兼容 Gateway 的入门 ORF 载体，或使用我们的 BP 克隆试剂盒(Cat. No. S6961-01/04)构建入门载体 (The Entry Clone)。

2. 冰上融解 2X Gateway LR Clone Enzyme mix，在无菌反应管中建立下述反应体系：

反应体系	体积
2X Gateway LR Clone Enzyme mix	5 µl
入门载体(100 ng/µl) or Positive Control Entry Vector	3 µl
目的载体 (0.5 µg/µl) or Positive Control Destination Vector (抗氨苄青霉素）	2 µl

3. 充分混匀上述反应体系后快速离心后，于 25°C 孵育不少于 5 个小时，或孵育过夜。长时间孵育有助于得到更多的克隆。

4. 在每个反应管里加入 1 µl 的 10X Proteinase K Solution，混匀后 37°C 孵育 10 分钟。

5. 将上述克隆反应加入 60 µl 感受态细菌进行转化反应。

6. 次日查看克隆生长情况，挑选 2-3 个菌落，摇菌后用质粒提取试剂盒提取质粒 DNA 后，筛选正确克隆。阳性对照可用 NheI 和 XhoI 酶切后琼脂糖凝胶电泳验证，可见 1.1kb, 2.6kb 两个片段。

【备注】
本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。