



EZRecombinase™ LR Cloning Kit

Cat. No. RCBM-1001-020

Cat. No. RCBM-1001-100

使用说明书

GeneCopoeia, Inc.
9620 Medical Center Drive, #101
Rockville, MD 20850
USA

301-762-0888
866-360-9531

inquiry@genecopoeia.com

www.genecopoeia.com

广州易锦生物技术有限公司

地址：广州科学城揽月路3号F区F801（510663）

电话：4006-020-200、020-28069288、020-28069233

网站：www.igenebio.com

使用说明书

EZRecombinase™ LR Cloning Kit

I. 概述.....	3
II. 产品信息及储存条件.....	4
III. 产品使用流程.....	5
V. 有限使用许可协议及质量保证.....	6

I. 概述

GeneCopeia提供的EZShuttle™重组克隆体系应用*E. coli*和λ噬菌体特异位点的重组酶促体系使DNA片段高效、快速的从一个载体转移到另一个载体；其原理与Gateway®克隆技术相同。

EZShuttle™克隆体系将DNA片段从含有attL位点的EZShuttle™或Gateway® Entry clone（入门克隆）转移到含有attR位点的表达载体。将EZShuttle™或Gateway® Entry clone（入门克隆）与表达载体混合，然后加入EZRecombinase™ LR mix，室温（25°C）反应1小时后即可用于*E. coli*的转化（图1）。

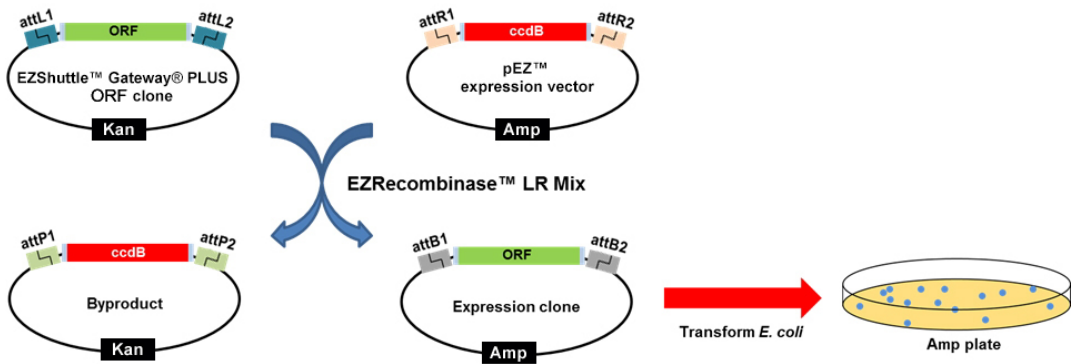


图1. 一步法从EZShuttle™或Gateway®入门克隆转移DNA片段到pEZ™表达载体或Gateway® pDEST载体。

EZRecombinase™ LR Cloning Kit是组成EZShuttle™克隆体系的一部分。EZShuttle™克隆体系主要包含以下几项内容：

EZRecombinase™ LR Cloning Kit: 一种高效率的酶，催化attL x attR重组反应。

pEZ™ vectors: 主要用于通过LR重组反应构建即用型表达克隆；与GeneCopeia's Shuttle™ Gateway® PLUS穿梭克隆或Gateway®入门克隆不同，这些载体带有化学筛选标记。

EZShuttle™ Gateway® PLUS穿梭克隆: GeneCopeia提供约35,000种人和小鼠的EZShuttle™ Gateway® PLUS穿梭克隆，终止密码子可选。EZShuttle™ Gateway® PLUS穿梭克隆与Gateway® Entry clone一样，在EZRecombinase™ LR Mix作用下可以高效、快速地将DNA片段转移到任何pEZ™载体或其它与Gateway®相兼容的目的载体中。EZShuttle™ Gateway® PLUS穿梭克隆带有多克隆位点，也可用于经典的酶切-连接克隆过程。

II. 产品信息及储存条件

EZRecombinase™ LR Cloning Kit (RCBM-1001-020, RCBM-1001-100)

The EZRecombinase™ LR Cloning Kit 有2个包装规格:

20-Reaction Kit (Catalog No.RCBM-1001-020)

100-Reaction Kit (Catalog No. RCBM-1001-100)

产品内容	包装规格 20 reactions 100 reactions	寄送条件	储存条件
Enzyme reagents			
EZRecombinase™ LR Mix	80μl 400μl	干冰	-80°C 至少保存1年
5× Reaction Buffer	80μl 400μl	干冰	-80°C 至少保存1年
Control reagents			
Positive control (Shuttle clone eGFPp, 100 ng/μl)	20μl 20μl	干冰	-80°C 至少保存1年

特别提醒:

客户收到产品后请立即储存于-80°C冰箱。

试剂盒外必备其它主要试剂

- EZShuttle™ clone 或 Entry clone DNA
- pEZ™ 表达载体或 Destination vector DNA
- TE buffer, pH 8.0
- 感受态细胞【易锦产品货号 U0102A (DH5α 感受态细胞)、U0103A (Stb13 感受态细胞)、U0104A (2T1 感受态细胞)】
- S.O.C 培养基

III. 实验流程

请根据以下实验步骤进行 attL x attR 重组反应和转化。

LR Recombination reaction

1. 从-80℃冰箱取出 LR Recombinase Enzyme Mix，冰水放置2分钟，短暂漩渦2次，2秒/次。
2. 在室温下加以下试剂到 1.5 ml EP 管内并混匀：

试剂名称	体积
EZShuttle™ (or Gateway® Entry clone) (100-300 ng)	1-10 μ l
pEZ™ vector (or Gateway® pDEST vector) (150 ng/ μ l)	2 μ l
5x Reaction Buffer	4 μ l
TE buffer, pH 8.0	加至 16 μ l
总体积	16 μl

3. 加 4 μ l LR Recombinase Enzyme Mix 到反应管里，充分混匀。
4. 短暂离心，以确保所有试剂在反应管底部。
5. 置 25 °C 反应 60 分钟。

*** 使用后，LR Recombinase Enzyme Mix 应立即放回-80℃冰箱。**

转化

1. 把感受态细胞置于冰中解冻。
2. 用移液枪吸取 4 μ l 反应产物移至灭菌 1.5 ml EP管内，加入 50-100 μ l 的感受态细胞，冰浴 30 分钟。
3. 42 °C 热激 45 秒，然后冰浴 2-3 分钟。
4. 加入 500 μ l S.O.C 培养基，于 37 °C 振荡培养 1 小时（200 或 220 rpm）。
5. 分别取 50 μ l 和 200 μ l 培养物涂布含有与 pEZ™ vector (or Gateway® pDEST vector) 一样抗性的琼脂糖平板。

*** 不建议转化物全部涂板，以免长菌太多影响后续筛选工作。**

6. 37 °C 培养 12-16 小时。

V. 有限使用许可协议及质量保证

有限使用许可协议

以下条款适用于GeneCopoeia所有得产品。如果不接受以下条款，所有的产品必须在5个工作日内返回GeneCopoeia。GeneCopoeia的产品仅限购买方内部研究使用，不可用于包括人类或体外诊断和治疗在内的其他用途。GeneCopoeia的产品不得修改和转售、转赠给任何第三方，未经GeneCopoeia的书面批准，不得将产品用于向其他第三方提供服务或用于制造商品化产品。此产品必须按照国家卫生研究院的DNA重组和基因研究的指导方针使用。

有限质量保证

GeneCopoeia保证您收到的产品符合产品目录上的规格。如果GeneCopoeia的产品未能满足这些规格，GeneCopoeia将替换该产品。如果不能提供替换产品，GeneCopoeia将退款给购买方。这个有限质量保证不得延伸至产品的原始购买者以外的人。如果产品与订购信息不符，所有的产品必须在30天内返回回GeneCopoeia。GeneCopoeia的责任仅限于替换产品，且退款只限于实际的购买价格。GeneCopoeia不对任何由于使用或不正确使用本公司产品造成的直接、间接的、衍生的或偶然的损害所产生的后果负责。GeneCopoeia不提供其他任何形式的对于产品商业或健康用途的保证。

GeneCopoeia致力于为我们的客户提供高质量的产品。如果你对我们的产品有任何问题和担忧，请和我们联系，电话：301-762-0888。

© 2015 GeneCopoeia, Inc.