

## GeneCopoeia 克隆产品操作参考指南

适用产品包括：OmicsLink™ORF, ORFEXPRESS™ Gateway® PLUS, ORFeome, Promoter 克隆, UTR 克隆, shRNA 克隆, sgRNA 克隆, miRNA/inhibitor 克隆系列

### 一、克隆产品形式及储存条件

克隆产品类型	产品形式	储存条件
质粒	液体（蓝色盖）	短期（2周）4°C 长期（1年）-20°C 长期（>1年）-80°C
菌液	1管菌液（黄色盖）和 1管甘油溶液（黄色盖）	菌液：应尽快按操作说明处理 [附录一]

### 二、质粒抗性说明

我司提供的克隆产品中涉及多种原核抗性，进行质粒或菌液放大实验时需明确对应的抗性信息。请通过质粒相应的 datasheet 做最终的确认。

克隆产品类型	原核抗性	推荐工作浓度
即用型 ORF 表达克隆、启动子克隆（部分）、 UTR 克隆（部分）、sgRNA 克隆、 miRNA/inhibitor 克隆、shRNA 克隆、	Ampicillin	50 µg/ml
Gateway® PLUS 克隆（GC-）、 ORFeome 克隆（HOC, OG）部分、 启动子克隆（部分）、UTR 克隆（部分）	Kanamycin	50 µg/ml
ORFeome 克隆（HOC, OG）部分	Spectinomycin(壮观霉素)	100 µg/ml
定制克隆（CS-）	见 datasheet	/

### 三、克隆产品操作指引

克隆质粒类型	操作指引
普通小提质粒	不建议直接用于转染细胞和蛋白表达，需要转化后重新摇菌，用符合要求的试盒抽提出转染级别的质粒。转化操作参考[附录二]
困难克隆的普通小提质粒	不建议直接用于转染细胞和蛋白表达，需要转化后重新摇菌，用符合要求的试盒抽提出转染级别的质粒。请联系我司技术获取转化操作参考。
低内毒素质粒	可直接用于细胞转染实验，参考标签所示浓度，稀释至所需的浓度使用。 转染操作参考[附录三]

#### 四、常见问题与解决方案

1. 问：克隆质粒序列在哪里下载？

答：可通过官方网站输入产品货号下载：

<https://www.igenebio.com/tech/datasheet/index.php>

2. 问：交付产品中会有哪些菌株？这些菌株的使用注意事项有哪些？

答：一般是 DH5 $\alpha$  菌株、2T1 菌株、Stbl3 菌株，参考[附录一.菌液克隆产品操作参考指南]进行操作。

3. 问：如果对交付实物或报告或使用结果有疑问，该如何反馈？

答：如果您对交付实物或报告或使用结果有疑问，您可将您订购的基因订单号/货号、质粒酶切图谱、测序结果以及具体问题发至我司技术支持邮箱：[support4@igenebio.com](mailto:support4@igenebio.com)，收到后我们会第一时间回复您。如果您是通过代理商订购，可以将上述数据发给代理商，然后转交给我们。

#### 五、附录

附录一 菌液克隆产品操作参考指南

附录二 普通小提质粒转化操作参考指南

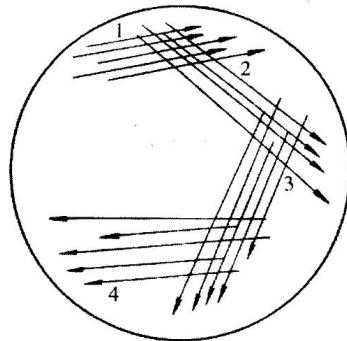
附录三 低内毒素质粒细胞转染操作参考指南

附录四 常见培养基配置

## 附录一 菌液克隆产品操作参考指南

我司克隆菌株默认寄送的产品形式为一管 300 $\mu$ L 的 LB 菌液和一管 300 $\mu$ L 的 50% 甘油溶液。  
收到上述克隆菌株产品后，请进行如下操作：

1. 在点燃酒精灯的超净台中，使用灭菌的接种环/小枪头蘸取少量的 LB 菌液，在带有抗性的平板上划线，如图所示：



平板划线法步骤图示

2. 取 200 $\mu$ L 50% 甘油溶液加入到剩余的 LB 菌液中，混匀，放置-80°C 保存。
3. 将步骤 1 的平板置于 37°C 恒温培养箱中倒置培养 16-24h。
4. 观察平板。挑取单克隆到带抗性的 LB 液体培养基，置于 37°C 恒温摇床中培养 16-24h。
5. 保菌、质粒提取。

## 附录二 普通小提质粒转化操作参考指南

### (一) 非病毒载体

可使用常见感受态进行质粒转化，如 DH5 $\alpha$ , 2T1 等，下面是我司 DH5 $\alpha$  (Cat.#CC001), 2T1 (Cat.#CC007) 的操作参考。最终以所购买的感受态厂家提供的产品操作说明为准。

DH5 $\alpha$  (Cat.#CC001), 2T1 (Cat.#CC007) 的操作参考：

1. 把感受态细胞置于冰中解冻。
2. 把 50-100  $\mu$ l 的感受态细胞移至灭菌处理的试管内。
3. 加入用于转化的 DNA 或反应产物 (10 ng 以下)。
4. 冰中放置 30 分钟。
5. 42°C 放置 30~60 秒。
6. 冰中放置 2~3 分钟。
7. 加入 500 $\mu$ l 37°C 预温好的 SOC 培养基。
8. 37°C 振荡培养 1 小时 (160~225 rpm)。
9. 取适量涂布琼脂平板培养基。
10. 37°C 过夜培养。

### (二) 病毒载体

建议使用病毒载体专用感受态进行质粒转化，如 Stbl3 等，大肠杆菌 Stbl3 菌株能有效地抑制长片段末端重复区的重组，非常适合于含有同向重复序列的慢病毒和其他反转录病毒载体的复制。此外，细胞非常稳定，能提高慢病毒载体或其他不稳定载体的克隆效率。下面是我司 Stbl3 (Cat.#CC003) 的操作参考。最终以所购买的感受态厂家提供的产品操作说明为准。

Stbl3 (Cat.#CC003) 的操作参考：

1. 把感受态细胞置于冰中解冻。
2. 把 50-100  $\mu$ l 的感受态细胞移至灭菌处理的试管内。
3. 加入用于转化的 DNA 或反应产物 (10 ng 以下)。
4. 冰中放置 30 分钟。
5. 42°C 放置 30~60 秒。
6. 冰中放置 2~3 分钟。
7. 加入加入 37°C 预温好的 SOC 培养基，使终体积为 1 ml。
8. 37°C 振荡培养 1 小时 (160~225 rpm)。
9. 取适量涂布琼脂平板培养基。
10. 37°C 过夜培养。

### 附录三 低内毒素质粒细胞转染操作参考指南

下面是我司 EndoFectin™ Max 转染试剂（Cat.#EF013）的操作参考。慢病毒和 AAV 包装实验的转染操作可参考我司 EndoFectin™ Lenti 转染试剂（Cat.#EF001）。最终以所购买的转染试剂厂家提供的产品操作说明为准。

请使用适当保存和经常传代的健康细胞，并确保培养基无细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞，请在转染前至少传代 2 次。

EndoFectin™ Max 转染试剂（Cat.#EF013）的操作参考：

1. 目的细胞铺板培养。

转染前一天用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度，铺板培养；第二天进行转染操作时，一般细胞的最佳汇合度是 70~80%。（注意：该步骤请勿使用含抗生素的细胞培养液）

2. 制作 DNA-EndoFectin™ 复合物。

A. 从冰箱取出 DNA 质粒、EndoFectin™ Max 转染试剂、无蛋白培养液（如 Opti-MEM I™）恢复至室温。

B. 使用之前将 EndoFectin™ Max 转染试剂轻轻混匀。

C. 以使用 6 孔板转染 1 个培养孔为例，取 2.5 μg DNA 质粒稀释至 125 μL，室温静置 5 分钟；取 5~12.5 μL EndoFectin™ Max 转染试剂稀释至 125 μL，室温静置 5 分钟。

D. 5 分钟后，轻柔地将稀释的 DNA 混匀于稀释的 EndoFectin™ Max 转染试剂。室温静置 5~20 分钟，使 DNA-Endofectin™ 复合物充分形成。

3. 转染目的细胞。

向培养板孔/培养皿中逐滴添加 DNA-EndoFectin™ 复合物，在滴加过程中轻柔晃动培养板/培养皿，使转染试剂均匀扩散。（注意：避免将转染试剂重复滴加在同一位置）

4. 孵育细胞并检测分析。

在 CO2 培养箱中以 37℃ 孵育细胞，一段时间后即可进行分析检测。一般的基因表达在转染后孵育 24-48 小时即可进行检测。

更多转染过程的操作细节可进一步扫码查看。



## 附录四 常见培养基配置

### ● LB 培养基(Luria-Bertani 培养基)

配制 1L 培养基，于 950mL 去离子水中加入：

10g 胰蛋白胨

5g 酵母抽提物

10g NaCl

摇动容器直至溶质完全溶解。用 5 mol/L NaOH (约 0.2mL) 将 pH 调至 7.0。用去离子水定容至 1L。15psi(1.05 kg/cm<sup>2</sup>) 压力条件下液体循环高压蒸汽灭菌 20min。

### ● SOC 培养基

配置 100ml 培养基

2% (W/V) Bacto Tryptone

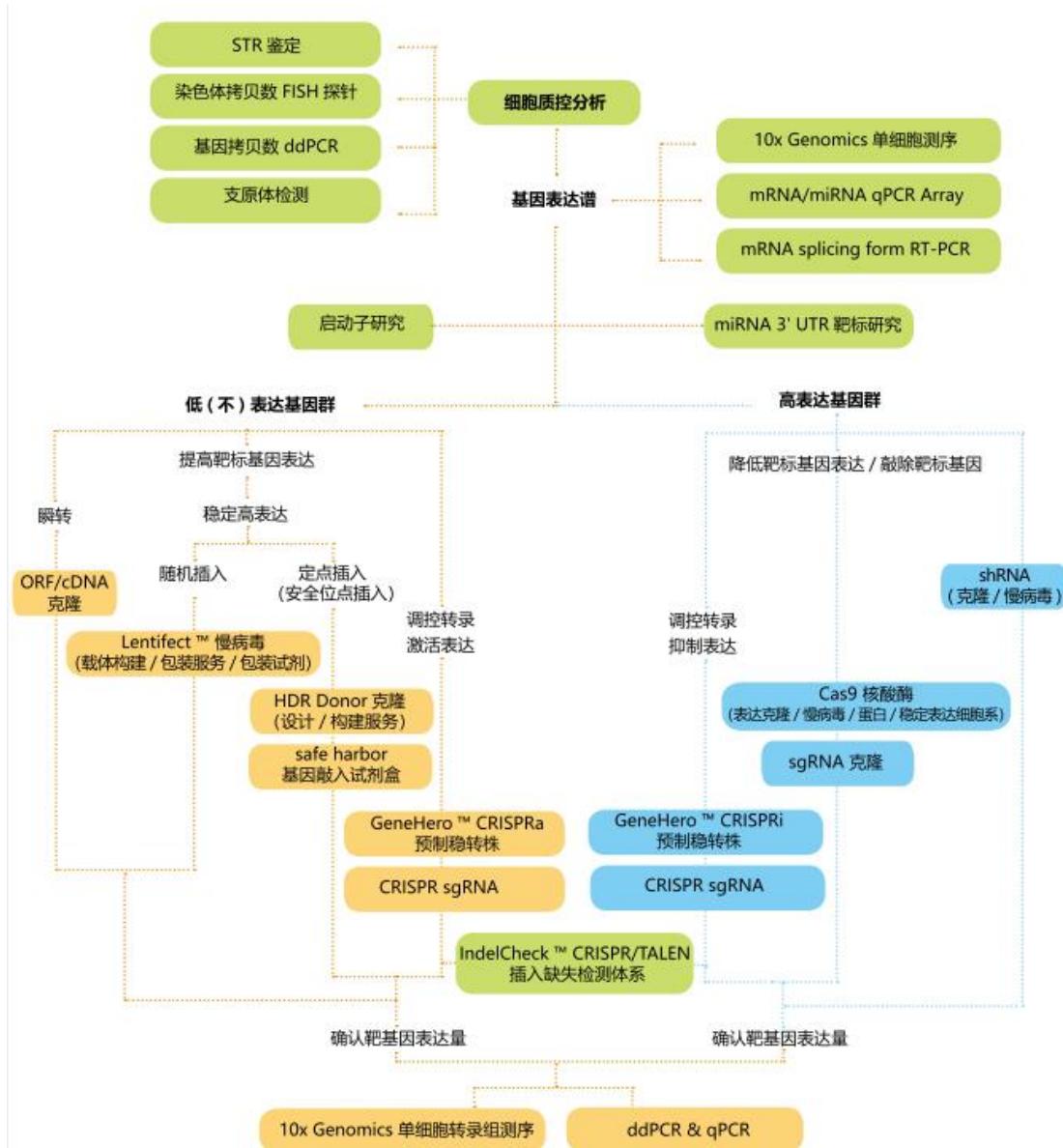
0.5% (W/V) Bacto Yeast Extract

0.05% (W/V) NaCl

2.5mM KCl

pH 值调至 7.0，灭菌后冷却到 60°C 以下。加入 MgCl<sub>2</sub> 溶液（终浓度为 10mM）和除菌的葡萄糖溶液（终浓度为 20mM）。

## 基因功能研究产品和服务指南



相关产品及服务：

[【转染试剂】](#) [【AAV 包装服务】](#) [【荧光素酶检测试剂盒】](#) [【细胞系构建服务】](#)



下载浏览

诚信 快速 优质

◆ ◆ ◆



官方微信



当地经销商查询

复能易锦提供的全部人类和小鼠 ORF 克隆及相关慢病毒和 AAV 病毒，所提供的载体质粒均采用毛细管电泳 Sanger 全长测序验证，并承诺编码的氨基酸序列与 NCBI 数据库匹配。

All human and mice ORF clones and related Lentivirus, AAV particles provided by GeneCopoeia are fully sequenced using Sanger sequencing by capillary electrophoresis and Amino Acid Sequences are guaranteed to be matched with NCBI database.



**GeneCopoeia, Inc.**

Address: 9620 Medical Center Drive, Suite 101 Rockville, MD 20850, USA

Email: [inquiry@geneCopoeia.com](mailto:inquiry@geneCopoeia.com)

Tel: +1(301) 762-0888

Fax: +1(301) 762-3888

Website: [www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com)



**广州复能基因有限公司**

**Guangzhou FulenGen Co., Ltd.**

地址：广州科学城揽月路 3 号 D 栋 8 楼 (510663)

Address: F8, Building D, No. 3 Lanyue Road, Huangpu District, Guangzhou (510663)

邮箱: [sales@igenebio.com](mailto:sales@igenebio.com)

电话: 4006-020-200 (020)32068595

网站: [www.fulengen.com](http://www.fulengen.com)



**广州易锦生物技术有限公司**

**Guangzhou iGene Biotechnology Co., Ltd.**

地址：广州科学城揽月路 3 号 F 栋 8 楼 (510663)

Address : F8, Building F, No. 3 Lanyue Road, Huangpu District, Guangzhou (510663)

邮箱: [sales@igenebio.com](mailto:sales@igenebio.com)

电话: 4006-020-200 (020)32068595

网站: [www.igenebio.com](http://www.igenebio.com)