

2XBest-Fit Ligation mix (Cat.#:CK202)

一、产品简介

本产品采用优化的反应缓冲体系并添加高效的连接增强剂，是一种高效的连接反应试剂。

本产品包括了 T4 DNA Ligase 等所有连接反应所需要的试剂，为即用型 2 x 预混液,使用操作简便，减少了不同组分添加和不同条件设置的繁琐操作，以及鉴定用 2xFaster Taq PCR Master Mix。

本产品适用于粘性末端连接，平滑末端连接，TA 连接，Linker 和 Adapter 等多种类型的连接反应，连接产物可直接转化多种化学感受态细胞。

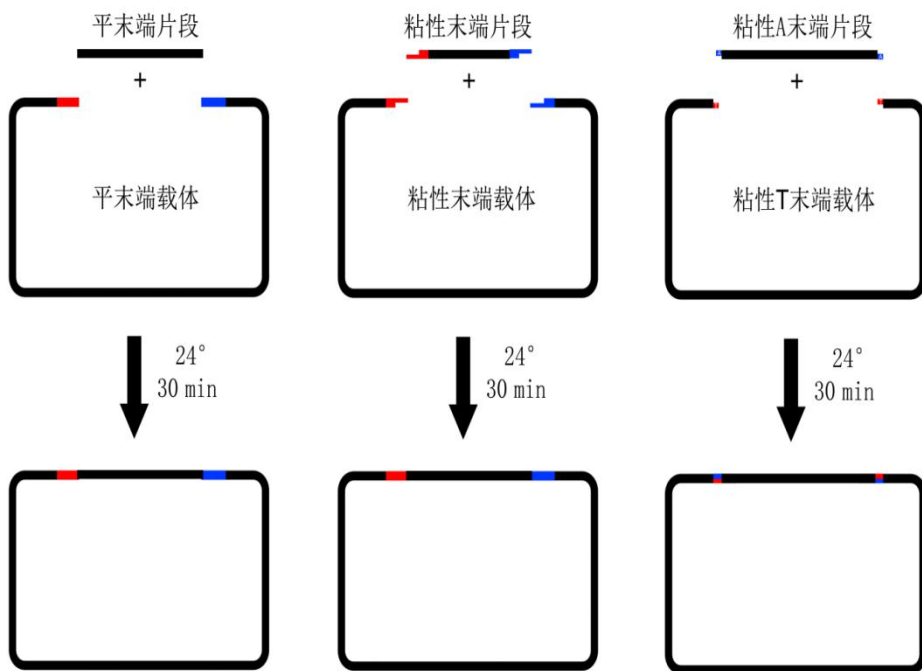
二、产品组成和储存

产品编号	2XBest-Fit Ligation mix	2×Faster Taq PCR Master Mix
CK202-01	750μl	1 ml
CK202-02	4x750μl	2x1 ml

保存条件：-20℃保存；

三、反应原理：

(反应原理示意图如下)



四、使用方法

- 1、在冰上使 2XBest-Fit Ligation mix 融化。
- 2、于冰上配制以下反应体系。

以 20ul 反应体系为例：

体系成分	用量
载体	50~100 ng
载体: 片段 (摩尔比)	1:3-5
2XBest-Fit Ligation mix	10μl
ddH ₂ O	补充至 20 μl

注：平末端载体与 DNA 片段进行连接时，应先将载体进行去磷酸化处理，以防发生自连接现象。

- 3、使用移液器轻柔混匀各组分，勿剧烈混匀，瞬时离心将反应液收集至管底。
- 4、在 24℃ 下反应 30 分钟，反应结束后可于 4℃ 或者冰上冷却，连接产物-20℃ 保存，时间不超过一周为宜。
- 5、反应产物转化，涂板：

a，冰上融化 100 μl 的 DH5α 感受态细胞，全部加入 20 μl 的反应液到感受态细胞中，轻弹混匀，冰浴 30 min。

推荐使用高转化率的咏景 DH5a 感受态细胞（产品编号：CD101）。

b，42℃ 水浴中热休克 45-90 s，迅速转移至冰上 2-5 min 冷却。

c，加入 500 μl 的 LB 培养基于冷却后的感受态细胞中，37℃ 孵育 1 h，使质粒抗性蛋白表达。

d，孵育结束后，10000 g 离心 30 s 以收集菌体，将菌体全部均匀涂布于含有抗生素的平板上，倒置于 37℃ 培养箱中，12-16 h 观察菌落生长情况。

- 6、阳性克隆筛选鉴定：

直接挑菌或液体培养后取菌液使用 2×Faster Taq PCR Master mix 进行 PCR 鉴定。

五、注意事项

本产品仅限于科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

进行转化操作时，应保持无菌条件。