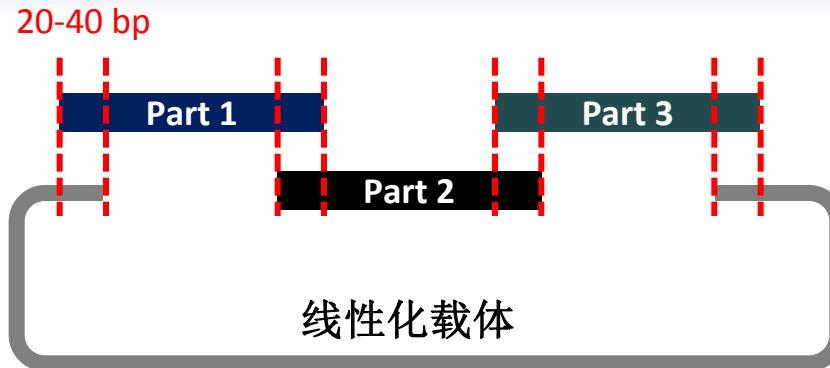


Smart Molecular Biology Products

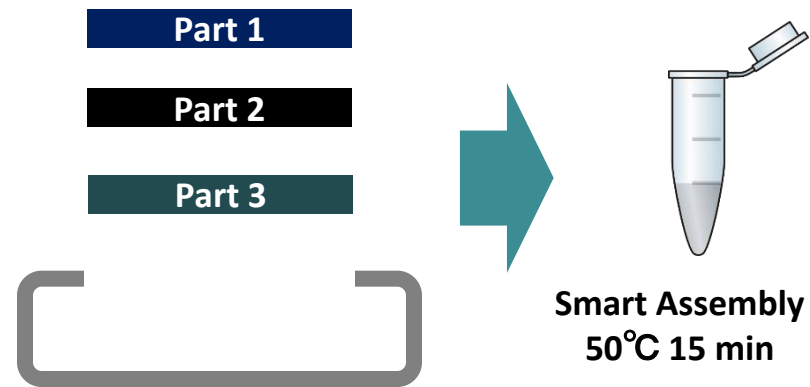


Smart DNA Assembly Cloning Kit

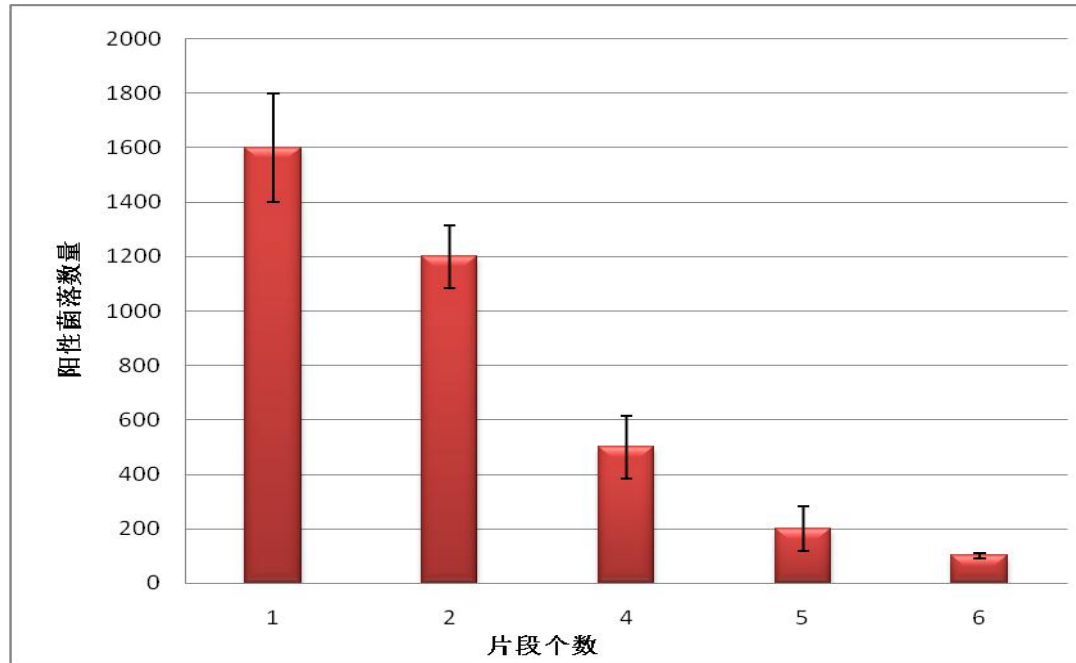


反应配置示例

成分	体积
Smart 2X enzymes mixture	10 ul
Part 1	0.1pmol
Part 2	0.1pmol
Part 3	0.1pmol
线性化载体	0.1pmol
H ₂ O	To 20 ul

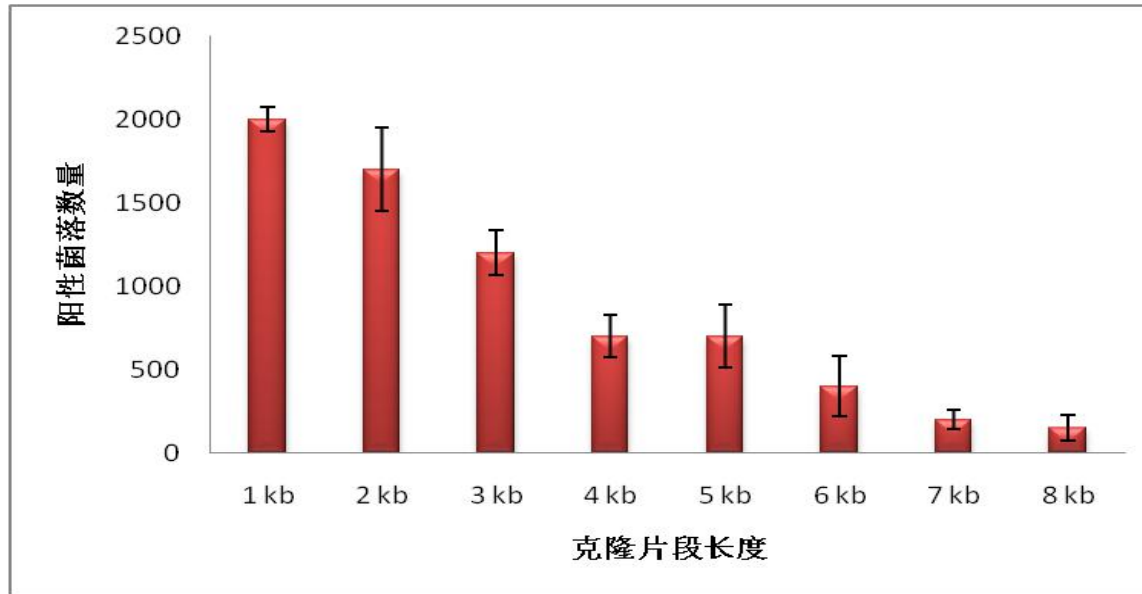


产品性能



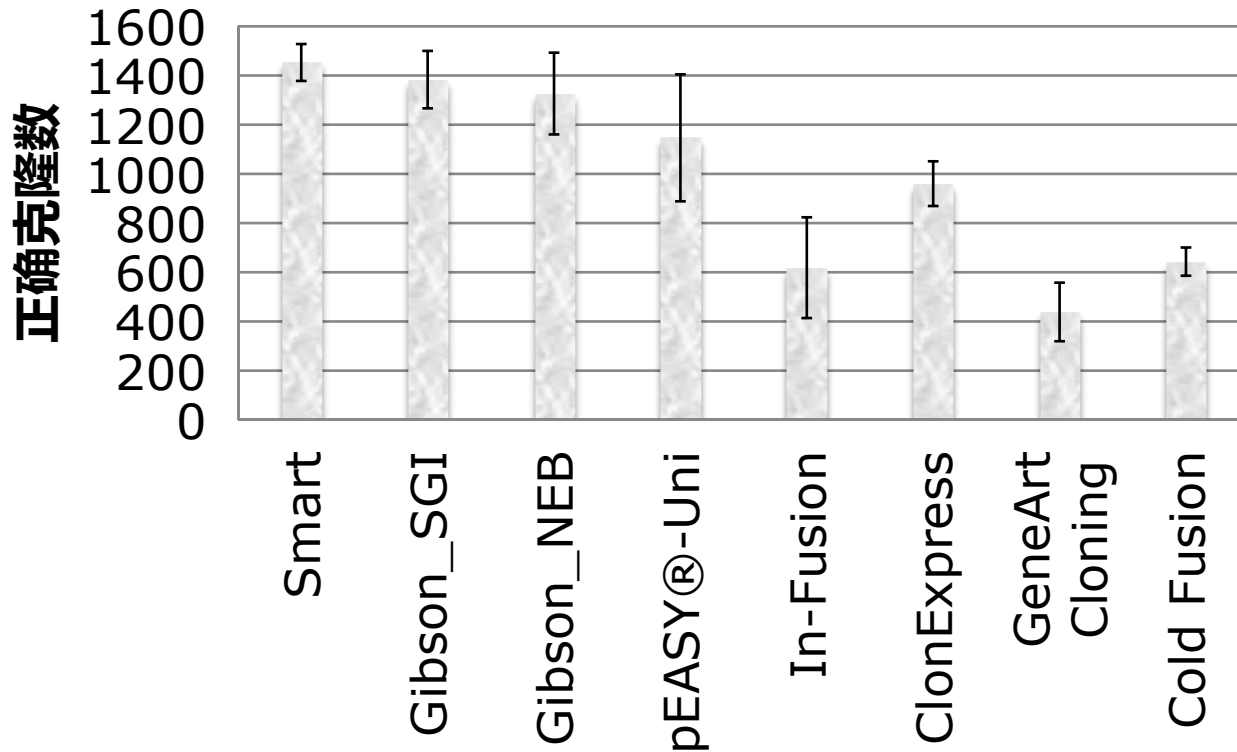
长度范围0.5kb~1.5 kb的片段克隆到pUC19载体中
6个片段长度总计8 kb

产品性能



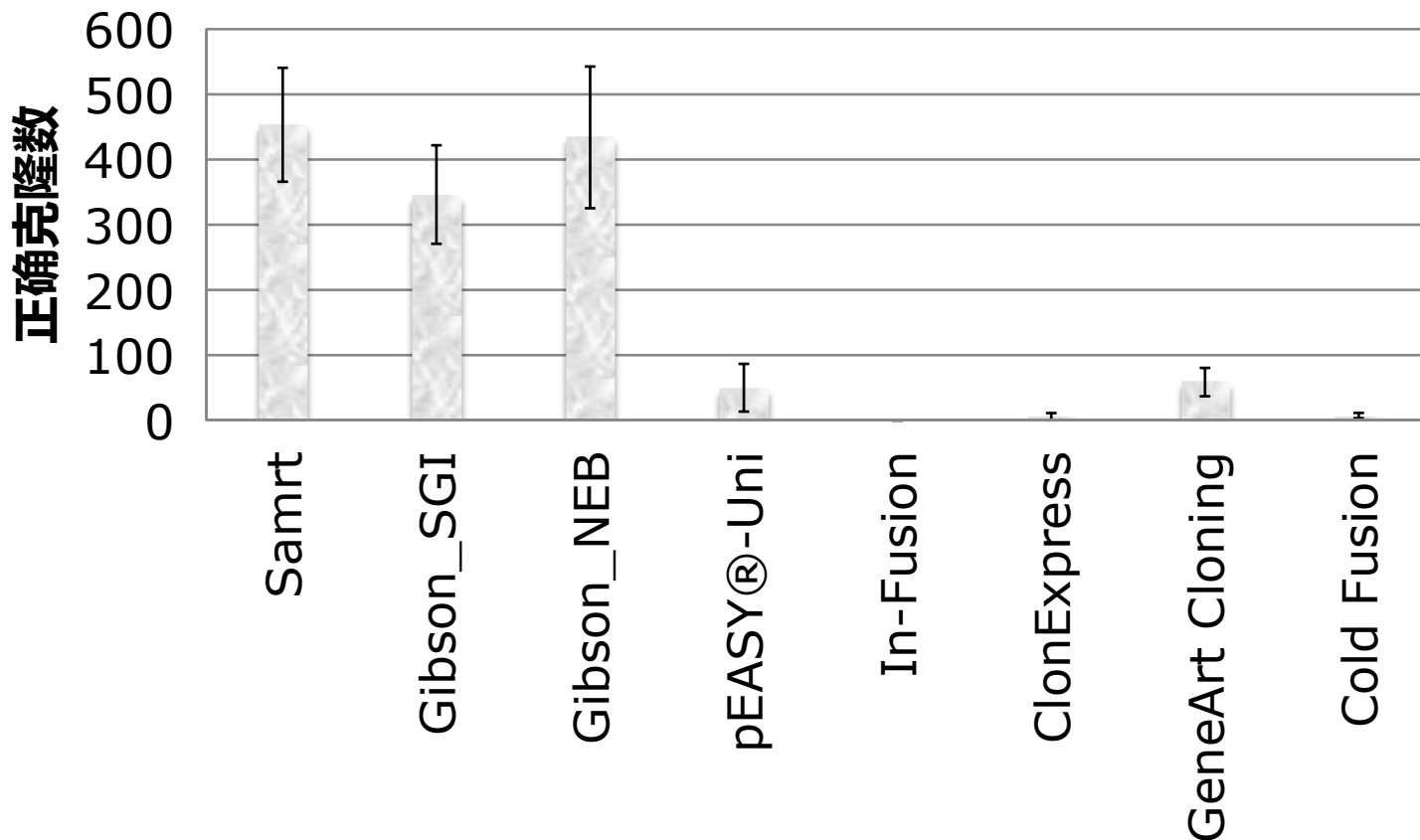
对单DNA片段1~8 kb的片段也能实现高效率的克隆
菌检阳性率均高于95%

同类产品性能比较



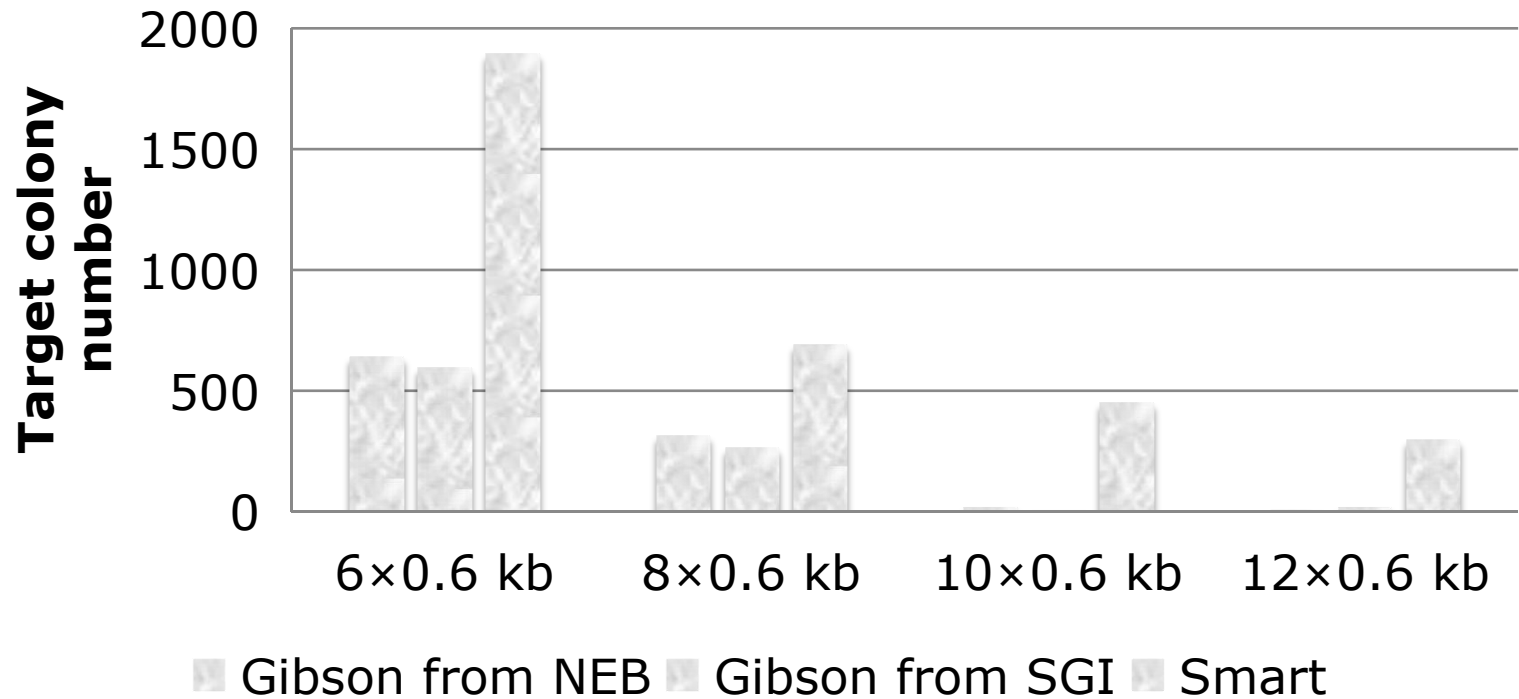
2个胶回收片段克隆进入1个载体

同类产品性能比较



5个胶回收片段克隆进入1个载体

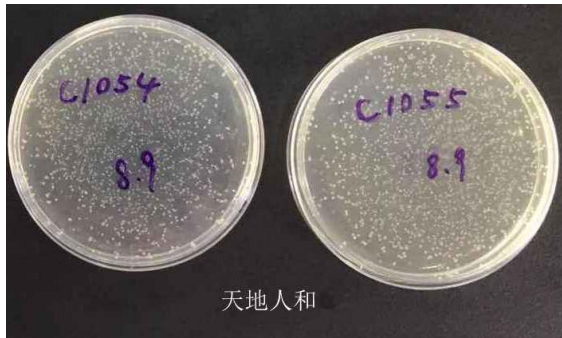
同类产品性能比较



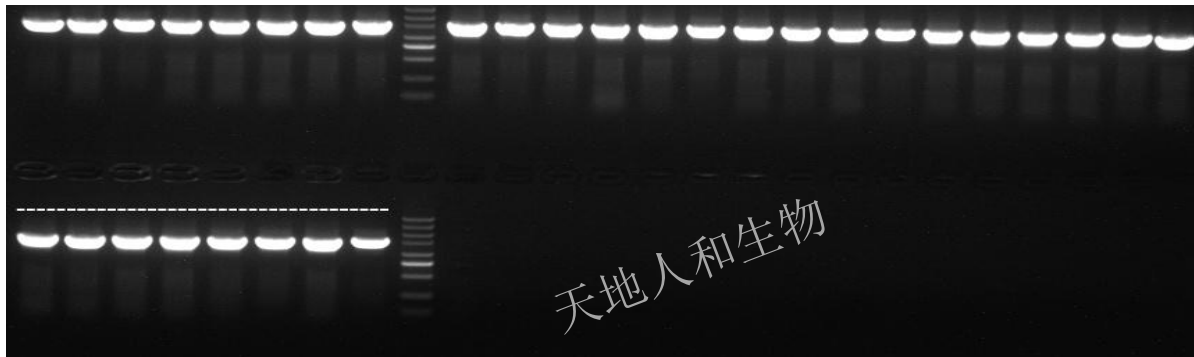
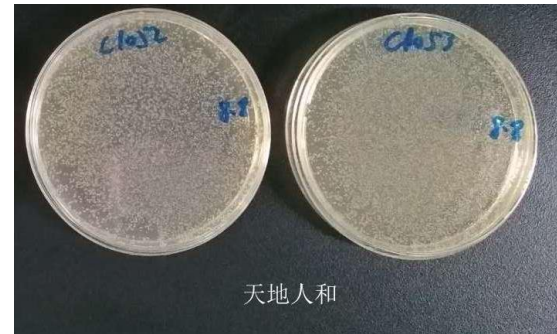
✓ **Smart**可以进行更加复杂的多片段克隆



克隆2片段组合



克隆3片段组合



每块板各挑8个菌落进行PCR验证



引物设计

插入片段首尾克隆引物设计：克隆引物包括插入片段特异性引物序列和重叠序列。

•克隆正向引物(5'-3')：线性载体正向25-40 nt重叠区序列(3'末端算起)+插入片段正向特异引物序列 (18-25 nt)

•克隆反向引物(5'-3')：线性载体反向25-40 nt重叠区序列(3'末端算起)+插入片段反向特异引物序列 (18-25 nt)

注意：重叠区的碱基数至少25bp，并且多段重叠区域之间的Tm值尽量保持一致且

> 60° C (AT pair = 2° C and GC pair = 4° C)，否则可延长碱基数目直到符合要求。

•按照线性载体末端的结构 (5'突出，3'突出，平末端)，引物设计也分3种情况，

•载体酶切形成5'突出末端

从3'端开始计算，往回算25-40bp (本举例采用了BamHI, puc57载体和25 bp末端重叠相同序列)，加到目的片段特异引物序列前面即可，以上引物设计完成克隆连接后，酶切位点将会消失 (不保留酶切位点)，如果需要保留酶切位点，需要在载体末端25 bp重叠序列和目的片段特异引物序列之间补齐5'突出末端的序列,完成克隆连接后，酶切位点依然存在 (保留酶切位点)。

5'..NNNNN GAATTCGAGCTCGGTACCTCGCGAATGCATCTAGATATCG3' 目标序列

(不保留酶切位点)

5'..NNGAATTCGAGCTCGGTACCTCGCGAATGCATCTAGATATCGCTAG3' 目标序列(保留酶切位点)

•载体酶切形成3'突出末端

从3'端开始计算，往回算25-40bp (本举例采用了KpnI, puc57载体和25 bp末端重叠相同序列)，加到目的片段特异引物序列前面即可，以上引物设计完成克隆连接后，酶切位点将会消失，如果需要保留酶切位点，需要在载体末端25 bp重叠序列和目的片段特异引物序列之间补齐酶切位点的缺失碱基(C),完成克隆连接后，酶切位点依然存在 (保留酶切位点)。

5'.....NNN GACGTTGATAAACGACGGCCAGTGAATTCGAGCTCGGTAC3' 目标序列

(不保留酶切位点)

5'.....NN GACGTTGATAAACGACGGCCAGTGAATTCGAGCTCGGTAC3' 目标序列

(保留酶切位点)

•载体酶切形成平末端

从3'端开始计算，往回算25-40bp (本举例采用了EcoR V, puc57载体,25 bp末端重叠相同序列)，加到目的片段特异引物序列前面即可，以上引物设计完成克隆连接后，酶切位点将会消失，如果需要保留酶切位点，需要在载体末端25 bp重叠序列和目的片段特异引物序列之间补齐酶切位点缺失的序列(ATC),完成克隆连接后，酶切位点依然存在 (保留酶切位点)。

5'.... NNCAGTGAATTCGAGCTCGGTACCTCGCGAATGCATCTAGAT 3' 目标序列

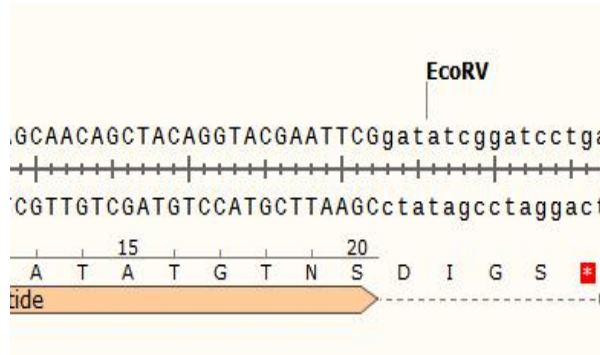
(不保留酶切位点)

5'NNCAGTGAATTCGAGCTCGGTACCTCGCGAATGCATCTAGATATC 3' 目标序列(保留酶切位点)

•多个插入片段的克隆引物设计：与载体两端连接的插入片段引物设计与之前一样，其他插入片段保证片段与片段之间有25-40bp 的重叠区即可



其实.....也可以不严格匹配，但阳性率会有下降，需增加测序量



NNN..GCAACAGCTACAGGTACGAATTCGgatatcggatcctga..NNN

线性化NNN..GCAACAGCTACAGGTACGAATTCGgat/

atcggatcctga..NNN

严格设计GCAACAGCTACAGGTACGAATTCGgat+目的序列，会增加1个氨基酸

非严格设计 GCAACAGCTACAGGTACGAATTCG +目的序列，不会增加氨基酸

Modified Mmlv Transcriptase



性能优化的逆转录酶

- 提高热稳定性，可耐受**55°C**的反应温度，适用于二级结构的**RNA**模板
- 增强与模板的亲合力，可获得更多全长的**cDNA**
- 高度灵敏，可检测到低至**1 pg**的总**RNA**

同类产品性能比较



42°C 20min

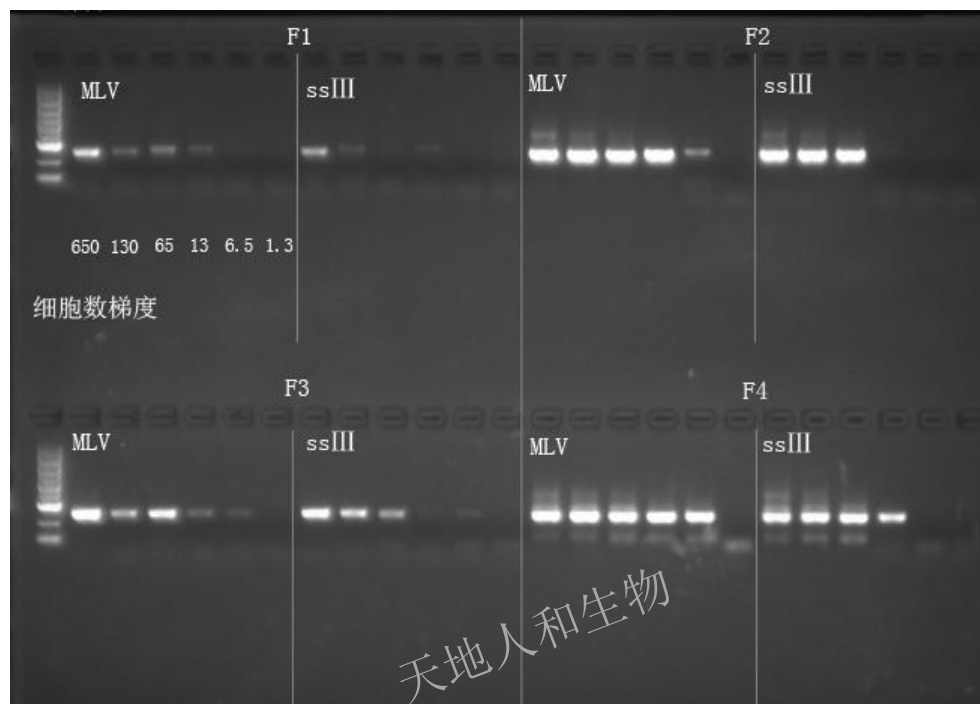
55°C 20min



同类产品性能比较



以1.3个~650个细胞总RNA为模板

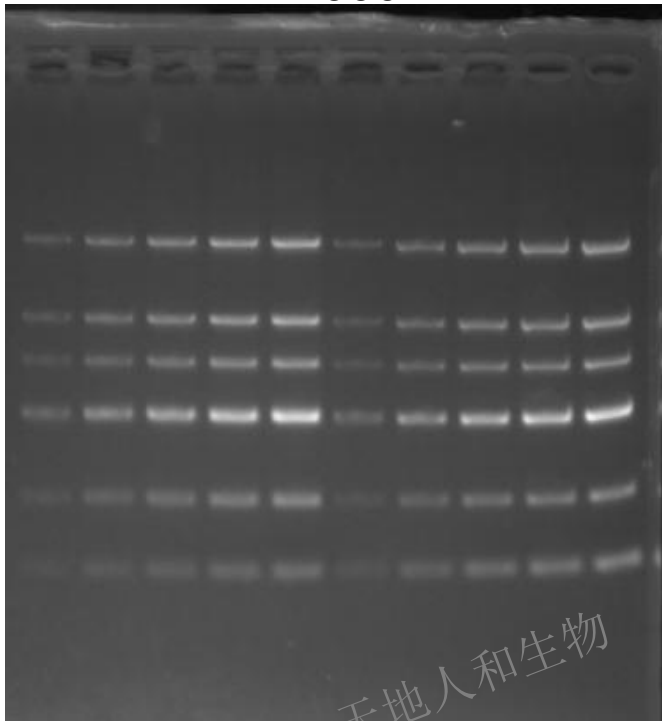


DNA Ladder



用特殊填料工艺精制的DNA Ladder 37 °C存放一个月无降解

DI2000



天地人和生物

DI5000

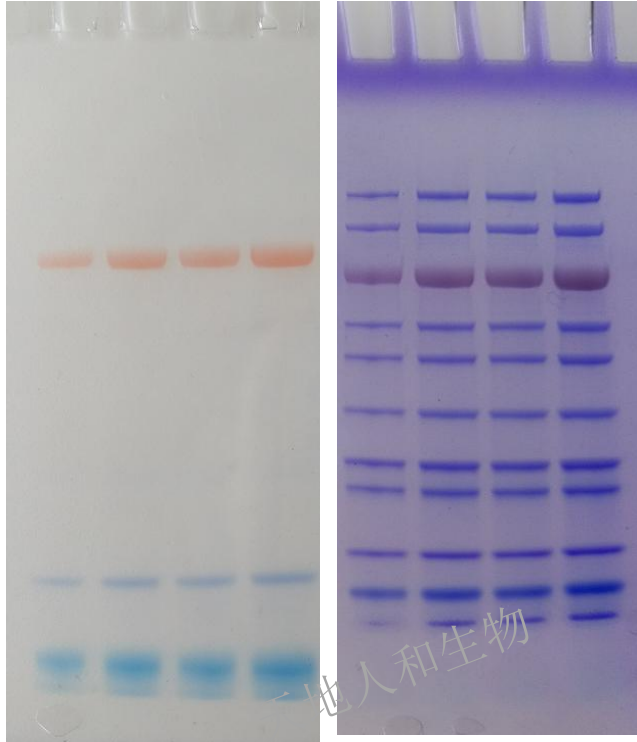


天地人和生物

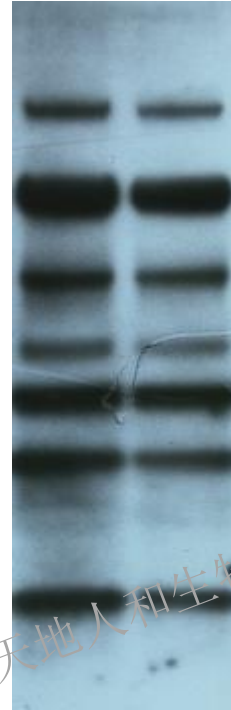
Protein Marker



普通型 9条普通条带+2条预染条带



Western marker



Thanks

