

# EXclone 快速使用说明书

这是一份 EXclone 快速使用说明书，如果您是第一次使用 EXclone 克隆系统，请务必参考详细使用手册（可从 [www.biogle.cn/exclone](http://www.biogle.cn/exclone) 下载）。

## EXIN 反应

Step 1. 设计带有 16-bp 末端的引物，PCR 扩增目标片段并纯化

Forward: 5- TCAGCAGTCGAAGAGC+(18-25 matched bp)

Reward: 5- TTAGCGTGTGAAGAGC+(18-25 matched bp)

Step 2. 从 EXclone 载体库选择入门载体或目标载体

Step 3. 建立 EXIN 反应体系

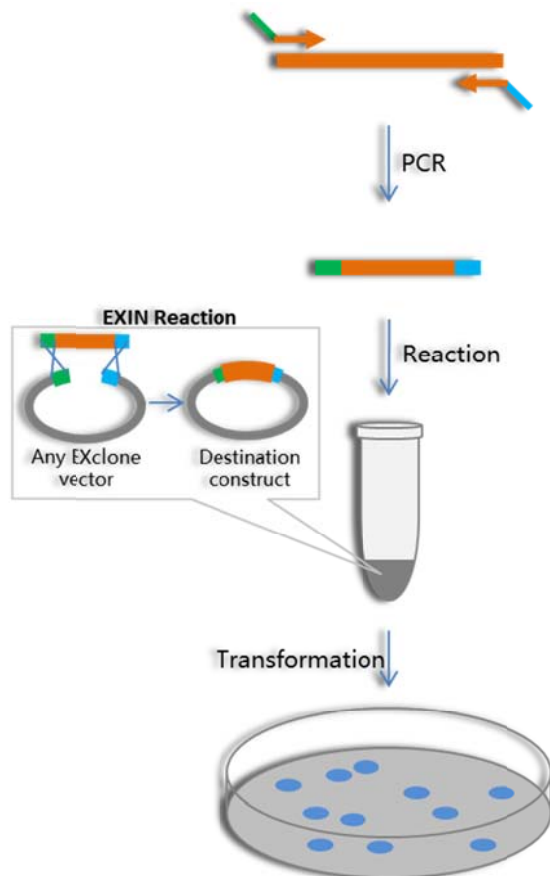
5X EX-Buffer	2 $\mu$ l
EX-Vector	2 $\mu$ l
EXclonase Enzyme	1 $\mu$ l
Your Insert DNA	X*
H <sub>2</sub> O	x
<hr/>	
Total	10 $\mu$ l

\* Insert 最佳用量 = 片段长度 (kb) \* 10 ng, 适用范围为 0.1~50 ng。重要：请勿超过 50 ng, 会抑制反应。

Step 4. 将反应体系混合后置于 37°C 孵育 30 分钟，然后于

室温(20°C)继续放置至少 15 分钟 (推荐采用 PCR 仪)

Step 5. 取 5  $\mu$ l 反应液，参考标准步骤转化大肠杆菌



## EXTO 反应

Step 1. 制备含有目的片段的 pEXIN 质粒，建议稀释至 10ng/ $\mu$ l

Step 2. 从 EXclone 载体库选择目标载体

Step 3. 建立 EXTO 反应体系

5X EX-Buffer	2 $\mu$ l
EX-Vector	2 $\mu$ l
EXclonase Enzyme	1 $\mu$ l
pEXIN-Insert Donor plasmid	X*
H <sub>2</sub> O	x
<hr/>	
Total	10 $\mu$ l

\* Insert 最佳用量 = 片段长度 (kb) \* 2 ng, 适用范围为 0.1~20 ng。重要：请勿超过 20 ng, 会抑制反应。

Step 4. 将反应体系混合后置于 37°C 孵育 60 分钟，然后于室温 (20°C)继续放置至少 15 分钟 (推荐采用 PCR 仪)

Step 5. 取 5  $\mu$ l 反应液，参考标准步骤转化大肠杆菌

