



ELK Biotechnology
For research use only.

Limitless™ ELZ Fushion kit

Limitless™ ELZ Fushion 无缝克隆试剂盒

产品组成

产品组成	使用次数	体积
5× Limitless™ ELZ Fushion Mix	25 tests	100 µl

储存条件

-20°C 保存。蓝冰运输。

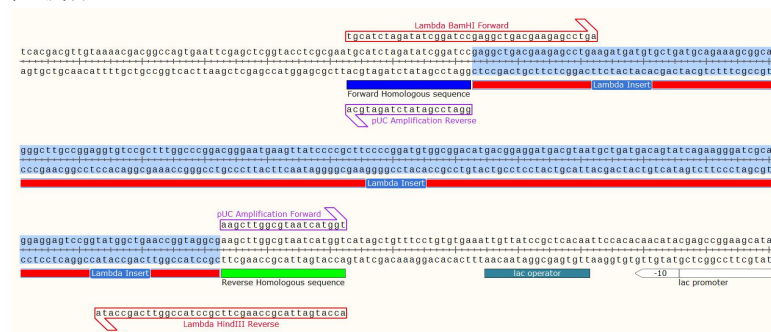
产品介绍

Limitless™ ELZ Fushion 无缝克隆试剂盒是一种新型、快速并且高效的 Gibson Assembly DNA 定向克隆技术，可以在任意载体的任意位置一次插入多个目的基因片段，让克隆不再受限于酶切位点和多克隆位点。Limitless™ ELZ Fushion 无缝克隆试剂盒操作极其简单，仅需将载体进行线性化，与 PCR 扩增得到的两端含有同载体完全同源（15-40bp）的片段进行混合，37°C 下反应半小时，无需酶连，直接转化即可完成克隆。阳性率 95% 以上。

实验原理

以 pUC57 作为载体，插入一段随机序列为例。

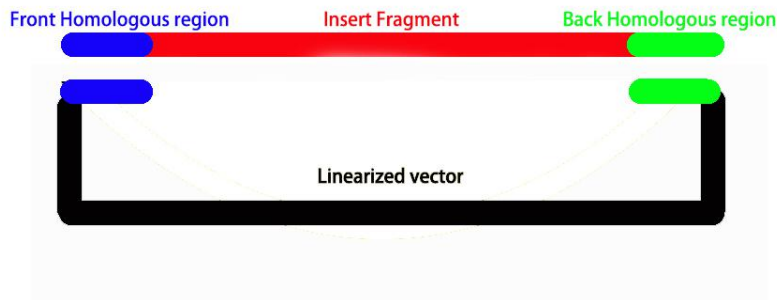
用 BamHI 和 HindIII 双酶切 pUC57 载体或者使用图中 pUC Amplification 引物(紫色字体引物) 扩增获得线性化的 pUC57 载体，进行纯化后得到线性化的载体。使用 Lambda 扩增引物（红色字体引物）扩增得到两端含有同载体完全同源的插入片段，两者混合后，在 Limitless™ ELZ Fushion 系统里进行同源重组，重组之后的产物转化入宿主菌落后，即可以提取得到重组克隆载体。





ELK Biotechnology

For research use only.



操作步骤

实验操作具体步骤:

1. 设计扩增引物，扩增并回收得到含有与载体同源序列的插入片段；
2. 使用限制性内切酶酶切载体或设计扩增引物扩增载体，回收得到线性化的载体片段；
3. 按照片段与载体的摩尔比=2:1~5:1 分别加入片段和载体序列，使用量如下表：

线性化载体	1 (份)
插入片段	2 (份)
5× Limitless™ ELZ Fushion Mix	4μl
H ₂ O	Up to 20μl

4. 37°C下反应 30min；
5. 冰浴 5min；
6. 取 10μl 进行转化实验，另外 10μl 至于 4°C 或-20°C 保存。

操作示意图

