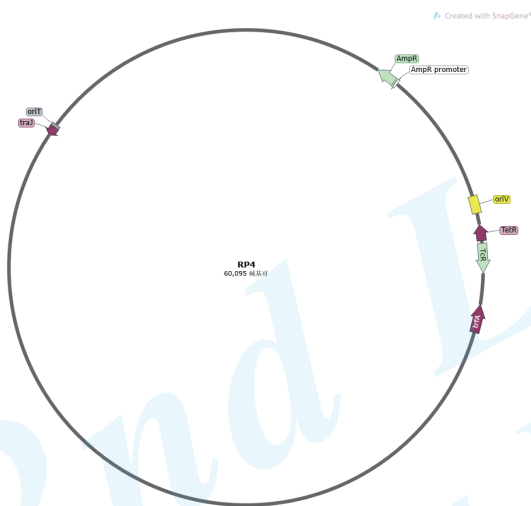


RP4 质粒说明书

● 产品规格内容 (CAT#: PE1010)

RP4 质粒	150µl / 1 支	>10ng/ul	-20 度保存/大于 10 年
DH5 α -m(含 RP4 质粒)甘油菌种	400µl / 1 支	—	-80 度保存/大于 10 年

● 质粒图谱与基础信息



质粒名称	RP4	质粒大小	60095bp
宿主	大肠杆菌	质粒类型	细菌结合质粒
大肠中质粒复制子	oriV/低拷贝	宿主中质粒复制子	—
大肠中抗性	Tet 四环素盐酸盐 10ug/ml	宿主中筛选标记	—
RP4-49157F	GCTCCTTCGTCAGTAGTTCT	产物大小: 3025bp	—
RP4-52181R	ACCTGGTTGCTGATGAGGTA		
RP4-29504F	TGAACTTCCTCAACCTCTGC	产物大小: 2938bp	—
RP4-32441R	GCGTGCTTGAACCTGTAGTC		
RP4-16417F	AGCGATACTGAGCGAAGCAA	产物大小: 973bp	—
RP4-17389R	CGAGGAACTATGACGACCAA		

● 产品说明

1. RP4 质粒大于 60kb，无法转化热激感受态，推荐用电感受态转化，本公司使用 DH5 α -m 电感受态细胞 (唯地: CAT#: DE1004) 进行 RP4 质粒的转化和扩繁。
2. 大质粒拷贝数低，提取效率低，建议用质粒大提试剂盒提取质粒，本公司的 RP4 质粒为质粒大提试剂盒提取，RP4 浓度偏低，无法酶切和测序鉴定，推荐用 PCR 扩增方法验证质粒，PCR 引物在上表中列出。
3. 随质粒同时提供一管含有质粒的 DH5 α -m 甘油菌种，收到菌种后可直接放 -80 度长期保存，也可用交叉划线法划线后挑单菌落接菌，大量扩繁质粒。DH5 α -m 菌株兼顾 DH5 α 和 DH10B 菌株的优点，在 DH5 α 基因组中引入 mcrA、mcrBC、mrr-、hsdRMS 突变使得 DH5 α -m 菌株中保存的质粒更稳定，有利于质粒大量扩繁。
4. 质粒序列可在产品页面下载 snapgene 文件或 text 文件。

● 注意事项

1. 收到含有质粒的菌株应立即放 -80 度，不可放 -20 度保存；在 4 度或室温长时间存放会增加发生错误突变的概率。
2. 质粒在不同实验室保存的过程中有发生突变的概率，所以实际的测序结果与数据库下载序列可能会有部分序列存在 SNP 或突变，只要不在核心元件发生突变或不影响质粒核心功能，一般不影响使用。

● PCR 方法

一，PCR 反应体系的配制

组分	体积
Taq PCR Mix (2X, with Blue Dye)	10ul
质粒模板	2ul
F/R Primer (10 μ M)	0.8ul / 0.8ul
ddH ₂ O	补加到 20ul

二，参考 PCR 扩增程序与参数

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94 °C	4 min	1
变性	94 °C	30 S	35
退火	55 °C	30 S	35
延伸	72 °C	X (延伸速度: 1kb/30s)	35
延伸	72 °C	5 min	1