

1. 载体、片段使用量计算：

CloneSmarter 无缝重组反应体系最适 DNA 使用量为每个片段(包括线性化载体)各 0.03 pmol。

该摩尔数对应的 DNA 质量可由以下公式粗略计算获得：

$$\text{每个片段最适使用量} = (0.02 \times \text{片段碱基数}) \text{ ng} (0.03 \text{ pmol})$$

例如，将长度分别为 0.5 kb、1 kb、2 kb 的插入片段克隆至长度为 5 kb 的克隆载体时，载体与各片段最适使用量为：

$$\text{线性化克隆载体最适使用量：} 0.02 \times 5000 = 100 \text{ ng；}$$

$$0.5 \text{ kb 插入片段最适使用量：} 0.02 \times 500 = 10 \text{ ng；}$$

$$1 \text{ kb 插入片段最适使用量：} 0.02 \times 1000 = 20 \text{ ng；}$$

$$2 \text{ kb 插入片段最适使用量：} 0.02 \times 2000 = 40 \text{ ng；}$$

a. 线性化克隆载体的使用量应在 50 ng - 200 ng 之间。当使用上述公式计算 DNA 最适使用量不足或者超出这个范围时，直接选择最低/最高使用量即可。

b. 各插入片段的使用量应大于 20 ng。当使用上述公式计算最适使用量低于这个值时，直接使用 20 ng 即可。（我们推荐使用不低于 40-50ng 的量去做反应）