

Certificate of Analysis

Project ID: C3661CK230-1
Lot No.: C3661CK230S-1/G197091
Plasmid Name: pcDNA3.1(+)-Mouse PDL1
Quantity: 100 µg(0.1 mg each,1 vial) Concentration: 1 mg/mL
Final Volume: 100 µl Final Buffer: TE

| QC Items | Specifications | Results | |
|---------------------|--|---------|--|
| Appearance | Colorless, clear, free of precipitate or foreign particles | Pass | Colorless, clear, free of precipitate or foreign particles |
| Identity | Co-migrates with reference DNA and/or size confirmed versus marker | Pass | Confirmed |
| Restriction Digests | Matches expected test | Pass | Matched Shown in attachment 1 |
| OD260/OD280 | 1.8-2.0 | Pass | 1.8 |
| Residual RNA | Not visible on agarose gel | Pass | Invisible |
| Genomic DNA | Not visible on agarose gel | Pass | Invisible |
| Endotoxin | <input checked="" type="checkbox"/> ≤ 0.005 EU/µg <input type="checkbox"/> No QC testing requested | Pass | ≤ 0.005 EU/µg |
| Bio-Burden Assay | <input checked="" type="checkbox"/> Bio-Burden Assay <input type="checkbox"/> No QC testing requested | Pass | No viable organism |
| Additional Test | | N/A | |

NOTE

| Shipping In | Plasmid Storing In | Bacstab Storing In | Glycerol Stock Storing In |
|------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| Room Temperature | -20℃ | 4℃ | -20℃/-80℃ |

Certified *Morgan* Date: 2017/12/2

As a pioneer and leader in gene synthesis technology, and the largest gene synthesis supplier in the US, GenScript has completed over 600,000 genes synthesis projects for scientists around the world. Since our establishment in 2002, we have built the best-in-class capacity and capability for biological research services encompassing gene synthesis and molecular biology, peptide synthesis, custom antibodies, protein expression, antibody and protein engineering, and in vitro and in vivo pharmacology – all with the goal to Make Research Easy.

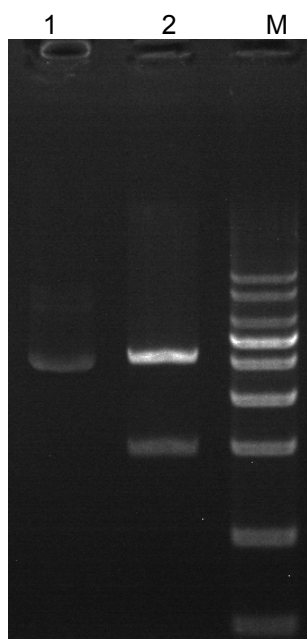
For research use only

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号

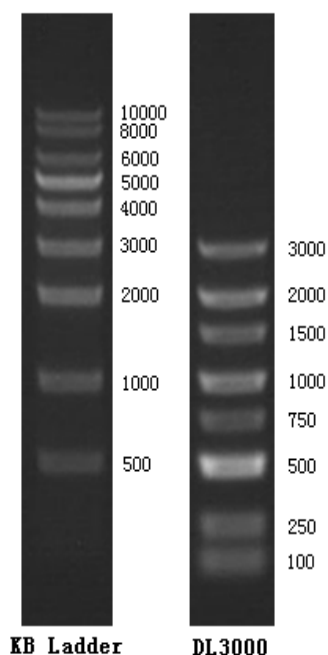
电话: 400-025-8686 025-58897288-5820 传真: 025-58897288-5815 电子邮箱: order@genscript.com.cn 网址: www.genscript.com.cn

Attachment 1

Enzyme Digestion



Lane M: KB Ladder
Lane 1: C3661CK230-1 plasmid
Lane 2: C3661CK230-1 plasmid digested
by XhoI and SmaI

**Digestion Conditions:**

About 300ng plasmid digested
Digestion in water-bath, 37°C for 40 minutes
1% Agarose Gel

For research use only

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号

电话: 400-025-8686 025-58897288-5820 传真: 025-58897288-5815 电子邮箱: order@genscript.com.cn 网址: www.genscript.com.cn

FAQ

1. 问：基因交付产品包括哪些内容？

答：基因合成的交付产品，金斯瑞标准的发货形式为一管约4 μ g的质粒冻干粉和一管甘油菌；如果您有特殊要求，比如需要10 μ g的质粒冻干粉或者需要更多的甘油以及穿刺菌备存，您可以在下单前告知我们。

2. 问：基因交付产品（质粒、甘油菌或穿刺菌）该如何保存？

答：通常建议保存温度：

| | |
|--------|------|
| 冻干状态质粒 | -20℃ |
| 甘油菌 | -80℃ |
| 穿刺菌 | 4℃ |

如果是基因文库产品：

| | |
|--------------|------|
| 液体状态质粒或PCR产物 | -20℃ |
| 甘油菌 | -80℃ |

特别说明的是：穿刺菌即便在4℃条件下保存，保存周期也仅两周左右，故请尽快使用，或者制备甘油菌在-80℃长期保存。

3. 问：基因交付产品中会有哪些菌株？这些菌株的使用注意事项有哪些？

答：一般是Top10菌株，少数情况下是Stbl3/EPI400/EPI300菌株，具体以甘油菌或穿刺菌标签上打印的菌株名称为准。菌株使用注意事项说明如下：

Top10：丰富培养基加抗性过夜摇菌即可；

Stbl3：30℃摇菌，摇菌时间延长到20~24 h；

EPI400/EPI300，操作则较为特殊：

a) 4 ml LB培养基，接入菌种（或10~50 μ l菌液），加入相应抗生素；

b) 将a中的培养物在37℃条件下，摇菌过夜；

c) 取b中过夜培养的菌液按1:10的体积比转接到新鲜的培养基中，然后加入相应抗生素；

d) 按1:1000的体积比加入诱导剂（induction solution），混合均匀后，37℃摇菌4h；

e) 将d中得到的菌液，按照您的抽提试剂盒说明提取DNA。

4. 问：基因交付产品（质粒）使用时应注意哪些事项？

答：一般小抽质粒不能直接用于转染细胞和蛋白表达，需要转化后重新摇菌，用符合要求的试剂盒抽提出转染级别的质粒，同时您也可以选择我们公司的转染级别的质粒制备服务。

我司发货的小抽质粒，标准是不少于4 μ g，冻干发货。由于质粒量少，开盖时容易丢失，故请在开盖前先进行离心操作，确保质粒沉在管子底部。打开盖子后，溶解时建议加入40 μ l左右的TE buffer或ddH₂O溶解，充分混匀，然后再次通过离心将液体收集在管子底部，就可以进行后续的转化实验了。液体质粒参照标签上的质粒浓度进行稀释或浓缩即可，在进行后续实验前也建议通过离心将液体收集在管底。

冻干或者液体质粒都建议在-20℃保存，保存浓度您可根据实际需要安排，但是建议尽可能高浓度保存。

5. 问：基因交付产品（甘油菌和穿刺菌）使用时应注意哪些事项？

答：甘油菌/穿刺菌使用，建议在使用前进行复苏处理，可以先用接种针挑取穿刺菌丝或蘸取甘油

For research use only

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号

电话：400-025-8686 025-58897288-5820

传真：025-58897288-5815

电子邮箱：order@genscript.com.cn

网址：www.genscript.com.cn

FAQ

菌，在带有对应抗性的平板上划线，也可以用甘油菌直接涂布复苏，第二天再挑取生长正常的菌落接菌扩大培养，可以提高摇菌的效率和成功率。一般不建议使用穿刺菌或者甘油菌直接大批量接种培养。

其他注意要点：穿刺菌和甘油菌开盖后极易污染，使用过程请注意无菌操作，避免交叉污染；其次是保存条件和摇菌条件。可参照上述答题2及3的说明。质粒和甘油菌尽量不要反复冻融，穿刺菌保存尽量不要超过2周。

6. 问：拿到质粒冻干粉后，如何进行转化？

答：质粒转化操作具体流程如下：

- 取1支含有50 μ L~200 μ L 的TOP10感受态细胞（储存于-80℃）在冰上解冻20-30分钟；
- 取2~3 μ L（将冻干的4 μ g质粒用无菌水溶解成100ng / μ L，详可参照上述答题4的说明）溶解后的转入解冻后的感受态细胞里（用手指轻轻弹拨）；
- 冰上放置10-15分钟；
- 将其2/3放置在42℃的水浴锅中，水浴120秒，进行热击；
- 立即从水浴锅中取出，放回冰上2~5分钟；
- 加入800 μ L LB培养基，并在37℃振荡培养箱（200rpm）中生长40分钟；
- 将部分或全部转化到含有100 μ g/ ml抗生素的LB琼脂平板上；
- 平板倒置，37℃过夜培养。

7. 问：对收到的质粒产品进行酶切验证时，选择酶切位点的建议是什么？

答：收到质粒后选择酶切位点，一般可以选择插入序列两头或者中间的酶切位点，可以单酶切也可以双酶切，建议选用的酶预计可以切出两个条带比较合适，只有一个条带或者条带太多都不利于酶切结果的判断。另外，注意切出的两条带的大小相差以大于0.5 kb，且不超过3 kb为宜。条带大小相近，则电泳时不容易分开；而条带大小相差太远，在电泳图上小条带会相对不明显。

如果您对产品报告中的酶切验证有特殊要求，可以在下单前说明，以便我们评估可行性，同时也让您更放心。

8. 问：选择使用的酶无法顺利切开质粒，是什么原因导致？

答：首先确定酶切位点是否甲基化，甲基化一般常见有Dam（GmATC），Dcm（C^WWGG，W=A或T）和CpG（^WCG），在酶切位点选择时尽量避免如：XbaI（TCTAGA），ClaI（ATCGAT），BclI（TGATCA），ApaI（GGGCCC），AvaII（GGWCC），SfiI（GGCCNNNNNGGCC），StuI（AGGCCT）等位点切割；无法避免这类酶切位点的，需将质粒转化甲基化缺陷型的细胞再抽提制备质粒，常用的Dam⁻/Dcm⁻细胞如：GM2163（E4105S），ER2925，JM110等；当然，若是您需要，在您下单时，可以标明或要求我们做去甲基化的处理。

其次是酶切buffer体系是否合适，酶有无失活等。

9. 问：为什么会在酶切位点两端有多余的碱基？这些多余的碱基是否影响使用？

答：两端多余的保护碱基的存在是为了更有效的保证下一步酶切克隆的进行，一般不会对您的实验造成影响；若有特殊的需求，下单时可以告知我们，我们会为您提供一个满意的实验解决方案。

10. 问：gRNA质粒在转化实验中优先选择哪个菌株？

答：我们优先推荐Stbl3菌株。

11. 问：如果对交付结果（实物交付、数据报告）有疑问，该如何反馈给金斯瑞？

答：如果您对我们的交付结果（实物交付、数据报告）有疑问，您可将您订购的基因订单号、质粒酶切图谱、测序结果以及具体问题发至我司基因技术支持邮箱：gene@genscript.com.cn，收到后我们会第一时间回复您。

For research use only

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号

电话：400-025-8686 025-58897288-5820 传真：025-58897288-5815 电子邮箱：order@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn