克隆载体相关产品选择指南(www.aidlab.cn资料下载栏目):

总论: 截至到 2015. 3. 15, 北京艾德莱是国内唯一同时掌握和精通 XcmI 制作 T4 快速连接载体技术,新一代 T0P0 拓扑异构酶载体技术,和自杀基因零背景载体技术的公司。

PCR 产物克隆载体根据制作的原理分为两种:

一、拓扑异构酶(TOPO)原理;二、快速 T4 连接酶原理

每一种制作原理的 PCR 产物克隆载体又分为两种类型:

- 1. TA 克隆(用于带 A 头 PCR 产物的克隆,例如 taq, LA taq, taq plus 等酶扩增产物);
- 2. Blunt 平末端克隆 (用于高保真酶扩增的平末端 PCR 产物,如 pfu, kod, vent, Phusion 等酶扩增的平末端产物)

一、拓扑异构酶(TOPO)原理的克隆载体分类:

| 拓扑异构酶(T0P0)原理的克隆载体 | | | | | |
|-------------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------------|--|--|
| TOPO TA 克隆载体 | | TOPO Blunt (平末端) 克隆载体 | | | |
| CV14-Zero Background | CV15-Zero Background | CV16-Zero Background | CV17-Zero Background | | |
| pTOPO-TA Cloning Kit (零 | pTOPO-TA Simple Cloning | pTOPO-Blunt Cloning Kit | pTOPO-Blunt Simple Cloning | | |
| 背景 TOPO TA 克隆,含多克 | <u>Kit(零背景 TOPO TA 克隆,</u> | (零背景 TOPO 平末端克 | Kit(零背景 TOPO 平末端克 | | |
| 隆酶切位点 MCS) | 不含多克隆酶切位点 MCS) | 隆,含多克隆酶切位点 | 隆,不含多克隆 MCS) | | |
| | | MCS) | | | |

二、快速 T4 连接酶原理克隆载体分类:

| 快速 T4 连接酶原理克隆载体 | | | | | | |
|--------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|--|--|--|
| TA 克隆载体(Xcm I 酶切) | | Blunt(平末端)克隆载体(自杀基因零背景) | | | | |
| CV04-pBLUE -T 载体连接 | CV11-pBLUE -T Simple 载 | CV08-pZERO-Blunt 零背景 | CV13-pZERO-Blunt Simple | | | |
| <u>试剂盒</u> | <u>体连接试剂盒(不含多克隆</u> | <u> 平末端快速连接试剂盒</u> | 零背景平末端快速连接试剂 | | | |
| | 酶切位点 MCS) | | 盒(不含多克隆酶切位点 | | | |
| | | | MCS) | | | |

艾德莱 PCR 产物克隆载体共性:

- 1. 所有的载体无论是 TOPO 原理载体还是快速 T4 连接酶原理载体均可以 5 分钟快速连接。
- 2. 所有的 T4 连接酶原理载体都不需要蓝白斑筛选,阳性率很高,插入 1000bp 对照质控的时候,随机挑 10 个,至少有 8 个有插入。
- 3. 所有的 TOPO 原理载体都是**真正零背景,**不需要蓝白斑筛选,阳性率几乎 100%,插入 1000bp 对照质控的时候,随机挑 10 个,至少有 9-10 个有插入。

所有艾德莱 TOPO 原理克隆载体优势:

本制品和传统的T4连接酶原理不同,它利用了Topoisomerase可以在瞬间(几秒钟-几分钟)、高效(接近100%)连接 DNA片段的原理采用本公司独创的工艺制成。

- 1. 可以在瞬间(几秒钟-几分钟)完成连接。
- 2. 无需冰浴和热休克,室温5分钟内完成转化;无需1小时复苏,只需37℃10分钟复苏便可以涂板。从连接到涂板全程仅需 15-20分钟。
- 3. 无自连、零背景,无需繁琐蓝白斑筛选,见到长出的克隆便是有插入的(接近100%)。
- 4. **可以连接长达10kb片段(即使连接5kb片段,挑10个菌落,至少8个是有插入的)**,是目前世界上最简单、最快速、零背景免筛选的TOPO TA克隆或者TOPO平末端克隆载体。

载体名称中 Simple 的含义:

载体名字中写着 Simple 的意思不是简化版的意思,而是指不含多克隆酶切位点(MCS)的意思,就是在克隆位点两边(载体插入点)两边的载体序列没有多克隆酶切位点的意思。Simple 类载体在克隆插入位点两侧不含多克隆酶切位点,如果需要做亚克隆,需要在 PCR 扩增引物上导入合适的酶切位点。此时如果使用 PCR 扩增引物导入的酶切位点进行 DNA 酶切时,酶切反应将不会受到载体上其它多克隆酶切位点上的限制酶影响,可以大大提高酶切效率,增加亚克隆成功率。

综上所述总结选择指南:

| 客户实验目的 | | | | | |
|--------------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|--|--|
| PCR 产物仅需要测序 | | PCR 产物测序后需要亚克隆 | | | |
| 产物是 A 末端(TA 克隆): | 产物是平末端 (Blunt): | 产物是 A 末端(TA 克隆): | 产物是平末端 (Blunt): | | |
| 首选 CV14 或者 CV15 均可, | 首选 CV16 或者 CV17 均可, | 亚克隆的需求完全是客户才 | 亚克隆的需求完全是客户才 | | |
| 次选 CV04,效果完全可以替 | 次选 CV08,效果完全可以替 | 知道的,所有只要是亚克隆 | 知道的, 所有只要是亚克隆 | | |
| 换或者超过宝生物的 | 换或者超过任何一家公司的 | 的客户, 只能发下面4种产 | 的客户, 只能发下面4种产 | | |
| pMD18-T,全式金的 pEASY | Blunt 平末端克隆产品。 | 品说明书让客户自己根据需 | 品说明书让客户自己根据需 | | |
| T1/T3, Promega 的 pGEM-T, | | 要自己选择。不懂的可询问。 | 要自己选择。不懂的可询问。 | | |
| 或者任何一家公司的 TA 克 | | 可选: CV14, CV15, CV04, | 可选: CV16, CV17, CV08, | | |
| 隆产品。 | | CV11。在都可选的情况下, | CV13。在都可选的情况下, | | |
| | | 优先推荐 CV14,CV15。 | 优先推荐 CV16, CV17。 | | |

新产品: CV12 Seamless Assembly and Cloning kit 无缝拼接克隆试剂盒

制品说明:本制品不依赖于 T4 连接酶,不受载体和目的片段的酶切位点限制,而直接用同源重组的方法,采用特殊的重组 酶可以将任意方法线性化后的载体和与其两端具有 15-25bp 重叠区域的 PCR 片段定向重组,可以快速实现 1-5 个片段的高效无缝克隆。

产品特点:

- 1. 30分钟可以将一个或者多个长、短PCR扩增片段(平端、A端均可)插入载体。
- 2. 不受载体和插入片段酶切位点的可用性和平端/粘性末端的限制,可以在任意位点进行克隆。
- 3. 无缝克隆,插入点不会引入不需要的碱基序列。
- 4. 高效、准确,阳性率>95%。

点突变试剂盒: CV09-One Tube Mutagenesis Kit 一管式突变试剂盒