

平黏末端通用型TOPO克隆试剂盒

室温5min高效连接

TOPO克隆的原理是利用牛痘病毒拓扑异构酶I(TopoI)的独特性质，特异性的识别5'-(C/T)CCTT↓-3'序列，并水解其识别位点3'端的磷酸二酯键。在连接反应中，受插入片段5'端羟基的攻击，磷酸键释放能量。利用该能量，插入片段5'端羟基与载体片段3'端磷酸基团连接在一起，Topo异构酶从载体分子上脱落，完成连接反应，整个过程在室温下仅需5分钟即可完成。重组后的质粒可用于测序或目的片段克隆后长期保存。

本产品能够兼容平末端产物或黏性末端产物，因其5×Ultra-Universal TOPO Cloning Mix中的平末端转化因子可将Taq酶扩增产物末端的A碱基切割，转化为平末端片段。

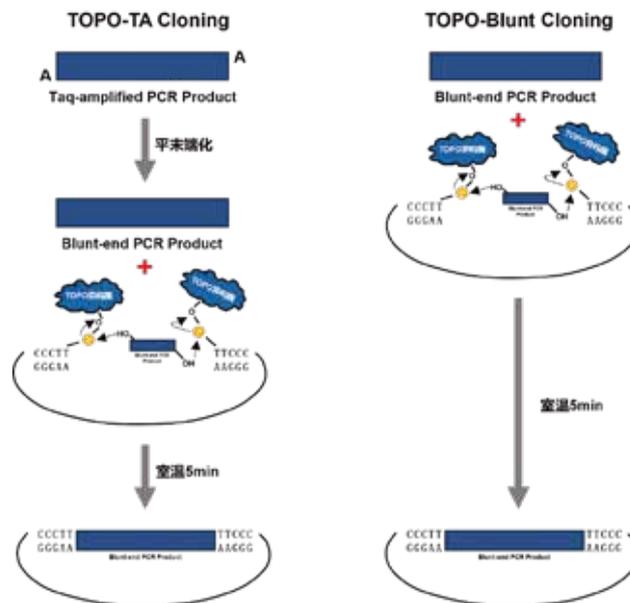


图1. TOPO克隆实验原理

产品特点



简单快速

只需加入插入片段，反应5min即可。



兼容性强

插入片段大小100-6000bp，粘性和平末端均可。



阳性率高

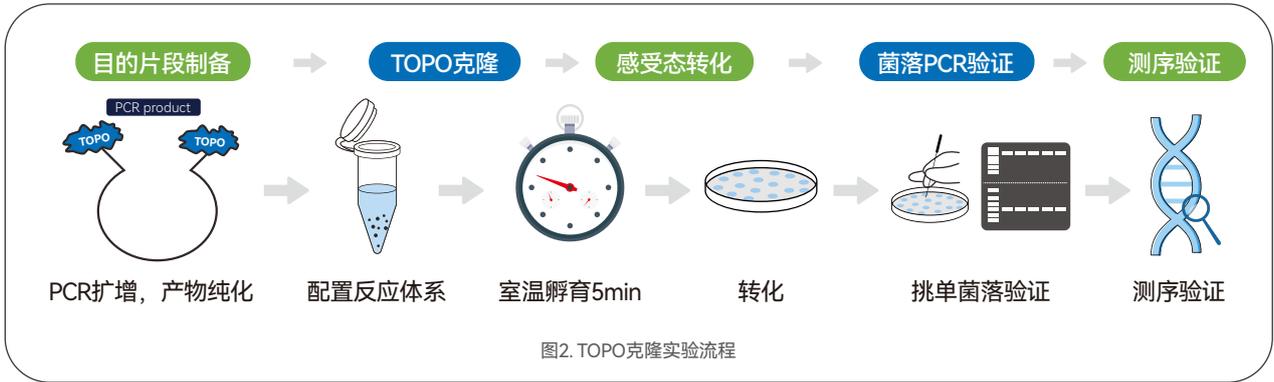
克隆阳性率接近于100%。



稳定性佳

重复性良好。

TOPO克隆实验流程



性能展示

01 兼容TA克隆和平末端克隆

1.1 TA克隆：准备100bp~6000bp大小的6个含“A”粘性末端插入片段，分别使用康为世纪CW3037、同类进口和国产试剂盒进行TOPO克隆。

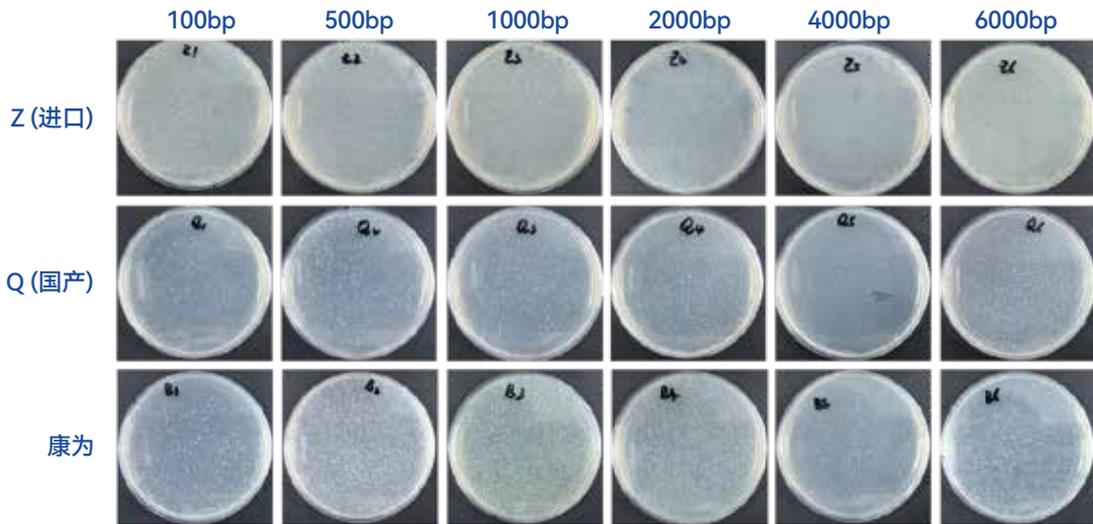


图1 a. TA克隆的平板菌落图

插入片段	Z(进口)		Q(国产)		康为	
	克隆数统计	阳性率 (三代测序)	克隆数统计	阳性率 (三代测序)	克隆数统计	阳性率 (三代测序)
100bp(10ng)	++++	70%	++	50%	++	60%
500bp(20ng)	++++	100%	+++	80%	++++	90%
1000bp(30ng)	+++++	80%	++	80%	+++++	90%
2000bp(60ng)	+++	90%	+++	90%	++++	90%
4000bp(80ng)	++	10%	++	50%	+++	50%
6000bp(180ng)	++++	0%	+++	0	+++	0

表1 a.TA克隆测序结果统计

1.2 Blunt克隆：准备100bp~6000bp大小的6个平末端插入片段，分别使用康为世纪CW3037、同类进口和国产试剂盒进行TOPO克隆。

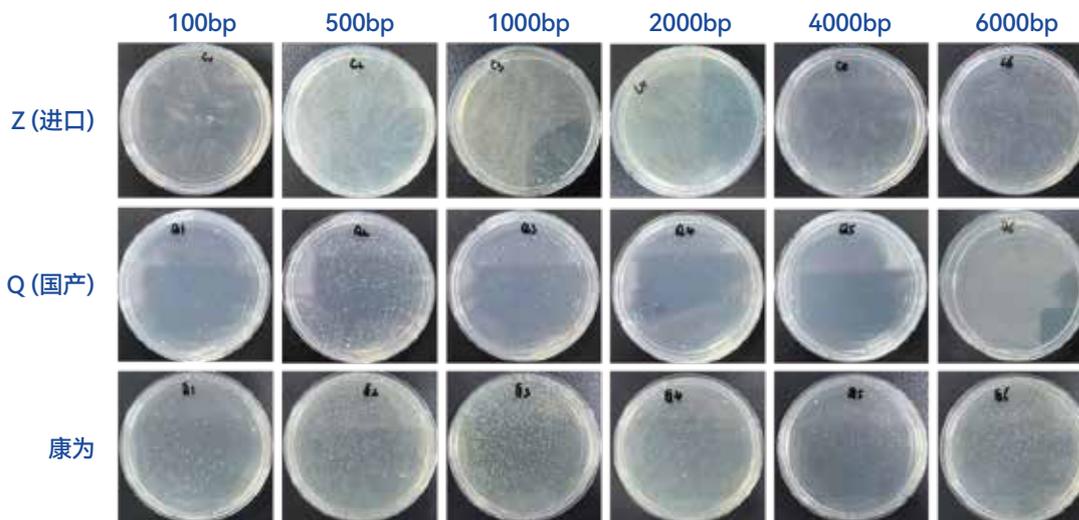


图1 b.Blunt克隆的平板菌落图

插入片段	Z(进口)		Q(国产)		康为	
	克隆数统计	阳性率 (三代测序)	克隆数统计	阳性率 (三代测序)	克隆数统计	阳性率 (三代测序)
100bp(10ng)	++++	70%	+	80%	+++	70%
500bp(20ng)	+++++	80%	++++	100%	+++++	90%
1000bp(30ng)	+++++	80%	+++	80%	+++++	90%
2000bp(60ng)	+++++	80%	+	80%	++++	80%
4000bp(80ng)	++++	90%	+	80%	++++	90%
6000bp(180ng)	+++++	0%	无	/	+++++	25%

表1 b.Blunt克隆测序结果统计

结果表明：从菌落生长情况和康为世纪三代测序结果来看，康为世纪产品表现良好，大小片段均能获得良好克隆，优于市面同类产品。

02 阳性率高：接近100%

准备1000bp大小，平末端含GFP荧光基团的片段，分别使用康为世纪CW3037和同类国产N、国产Q、进口Z产品进行TOPO克隆。在紫外光下观察带荧光的克隆数，有荧光的菌落即为阳性克隆，且荧光克隆数越多，代表阳性率越高。

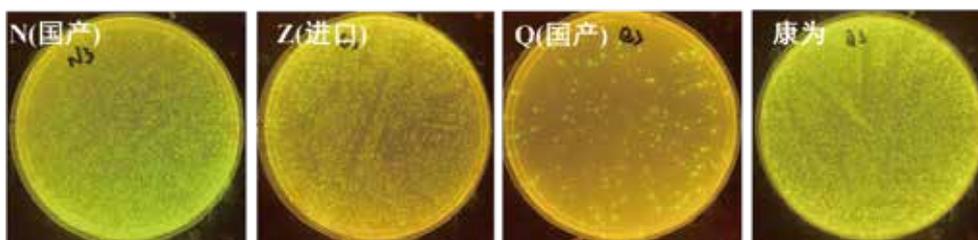


图2a. 插入GFP加“A”末端片段克隆的菌板荧光观察

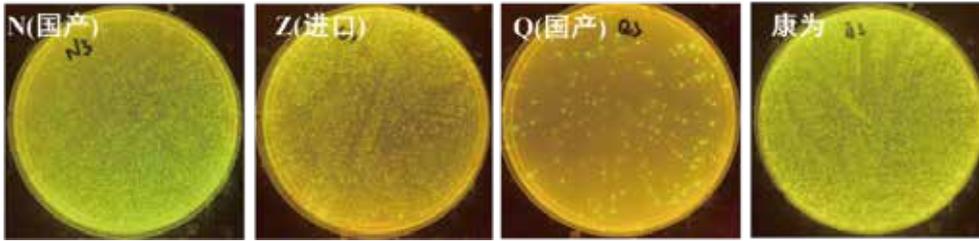


图2b. 插入GFP平末端片段克隆的菌板荧光观察

结果表明：与市面同类产品相比，康为世纪产品插入1000bp GFP片段，平板菌落数更多，阳性率更高，阳性率接近于100%。

03 稳定性好

将1000bp平末端GFP片段使用康为世纪CW3037进行TOPO克隆，在紫外光下观察带荧光的克隆数。利用此方法，测试本产品在室温、4°C和-20°C条件下的存储稳定性。

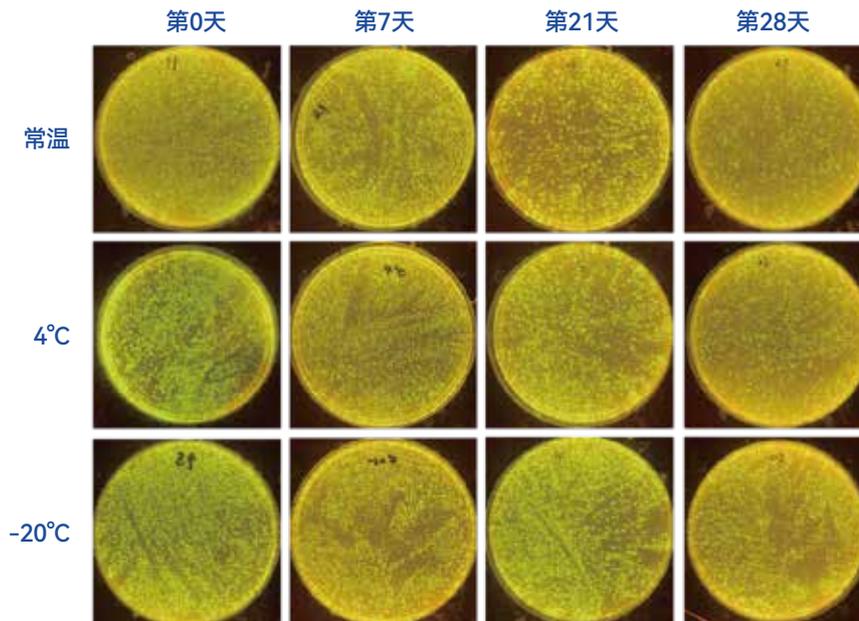


图3. CW3037不同温度下储存稳定性测试菌板荧光观察

结果表明：康为世纪CW3037在-20°C下保存0-28天，平板菌落数及阳性率无明显差异，稳定性良好。

产品信息

目录号	产品名称	规格
CW3037M	Universal TOPO TA/Blunt Cloning Kit	25 rxns



4006-222-360 (免费电话)
service@cwbiotech.com
www.cwbio.com



让每一个生命健康有为
上海证券交易所上市公司 (688426.SH)