



全克隆试剂盒

Pro Ligation-Free Cloning Kit

产品使用手册

Cat. No. E086 / E087

购买须知

abm的产品在发出时都会保证符合产品的质量控制标准。收到货物后若有问题必须在10天内通知abm公司。abm公司根据责任要求会更换产品。

技术支持

镇江爱必梦生物科技有限公司

电话: (8:00 am - 5:00 pm , 周一至周五)



本地: 0511-83367989

分机号:

分子试剂: 601

定制服务: 602

地址: 镇江市京口区国家大学科技园中心研发区B14栋

网址: www.abmGood.com

www.abmGoodChina.com



产品订购: order.china@abmGood.com

技术支持: technical.china@abmGood.com

DNA/基因全克隆试剂盒：Quick-start Protocol

下载完整指南，请登录网址www.abmgood.com搜索货号E086 或E087

设计并扩增PCR产物

1. 通过引物设计将插入片段的产物两端加上与线性化克隆载体末端相对应的15-25bp的同源序列。
2. PCR 扩增目的片段后通过凝胶电泳观察验证。

关键步骤: 请看本手册的第4页，有详细的引物设计方法。

纯化步骤（推荐）

3. 如果PCR产物中有非特异条带，采用柱纯化或胶回收的方式纯化产物。
- 加入0.5µl的连接增强剂 (assembly enhancer) 或加入1.0µl的克隆增强剂 (cloning optimizer) 到PCR产物中，在37℃下孵育30分钟，然后80℃孵育20分钟。

注意: 胶回收会帮助去除其他的PCR模板质粒，减少假阳性的发生。
线性化载体同样需要胶回收进行纯化，尤其是使用PCR方式线性化的载体，需要去除干净PCR中使用的环状质粒模版，否则易造成严重的假阳性结果。

必克隆反应

4. 通过紫外分光光度计的方法，或者与已知分子量的Maker在一块凝胶上进行电泳，比较其与目的条带亮度的方法，对插入基因和载体进行量化。
5. 在冰上配置以下反应：

反应试剂	克隆反应加入量	对照反应加入量
2X Pro Ligation-Free 全克隆预混液	10 µl	10 µl
线性化载体	100 ng	100 ng (5 kb 载体)
每个插入片段	3:1 的插入片段:载体摩尔比例	60 ng (1 kb 插入片段)
无酶水	加满至20 µl	加满至 20 µl

计算插入片段的加样量：

$$\text{片段}(\text{ng}) = 3 \times \frac{\text{片段}(\text{bp})}{\text{载体}(\text{bp})} \times \text{载体}(\text{ng})$$

6. 单片段插入时，50℃下孵育15分钟；多片段插入，或连接难度基因时，50℃下孵育1小时。
7. 立即进行下一步转化，或保存在-20℃备用。

ProClone™ 质粒转化

8. 将反应液加入至ProClone™感受态细胞（Cat. No. B001/B003）中。
9. 在冰上孵育30分钟。
10. 在42℃热休克处理45秒，然后置于冰上冷却2分钟。
11. 加入150µl无抗生素的LB培养基。
12. 37℃下摇晃培养1小时。
13. 将细胞均匀的铺在含有适当抗生素的预热LB琼脂培养基上。
14. 37℃过夜培养。

常见问题及解决办法: 如果没有阳性克隆出现，请检查：引物设计，插入DNA片段的浓度和纯度，载体与插入片段比例，抗生素的选择和转化的效率等相关因素。

筛选和分析

15. 通过菌落PCR或根据含有抗生素的LB培养基中菌落的生长情况进行菌落筛选。
16. 提取质粒DNA。我们推荐使用我们的Plasmid Mini-Prep Kit (D504) 试剂盒。
17. 通过分析测序获得正确的阳性克隆。

目录

. 1. 简介 1

2. 试剂盒组成 2

3. 保存条件..... 2

4. 其他材料需要..... 3

5. 插入片段制备..... 3

 5.1 PCR扩增插入片段的引物设计.....3

 5.1.1 多个片段的引物设计.....4

 5.1.2 PCR扩增制备线性化载体的引物设计..... 5

 5.1.3 酶切法制备线性化载体的引物设计..... 6

 5.1.4 引物设计其他注意事项..... 6

 5.2 PCR 扩增插入片段.....7

 5.3 可选：Assembly Enhancer & Cloning Optimizer 处理目的片段..... 8

6. 线性化载体制备.....9

 6.1 酶切法制备线性化载体方法..... 9

 6.2 PCR扩增制备线性化载体方法.....10

7. 全克隆连接反应..... 11

8. ProClone™ 质粒转化.....12

9. 问题排除指南..... 13

1.简介

Pro Ligation-Free Cloning Kit 全克隆试剂盒可以将多个DNA片段一步组装到载体中。DNA片段可以通过15-25bp的同源片段无缝连接，无需受到有无互补的限制酶切割位点限制。因此，推荐使用这种简单且适用性广的方法快速高效的完成一些具有复杂结构的克隆。

与传统克隆相比的优势：

1. 通过一步法快速地将最多6个片段整合进一个载体
→ 取代了耗时又复杂的传统克隆方法
2. 可以无缝地将插入片段克隆到任何载体的任何位点
→ 克隆产物没有多余的碱基对
→ 消除了克隆载体对有无互补的限制性内切酶位点的受限性

对Ligation-Free Cloning Kit (Cat. No. E001/E002)试剂盒的改进：

1. 通过一步法完成强力连接
→ 使用 Pro Ligation-Free试剂盒对困难的以及多个片段进行有效克隆
2. 使用增强连接剂(Assembly Enhancer)进行更快更可靠的克隆
→ 消除了耗时的凝胶回收或柱纯化等步骤
3. 调整了酶最适反应温度，提高了在炎热环境下连接效率的稳定性。
→ 消除了必须在冰上反应的严苛温度要求，实验更方便

Pro Ligation-Free Cloning Kit Workflow

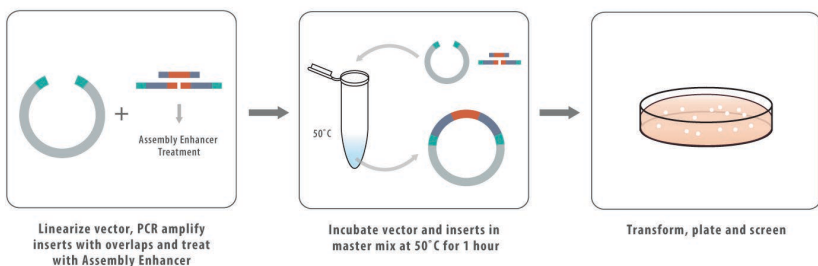


图1. 使用Pro Ligation-Free Cloning Kit全克隆试剂盒对多个插入片段无缝克隆连接的工作流程图

2. 试剂盒组成

Pro Ligation-Free Cloning Kit 全克隆试剂盒(20 个反应):

组分号	成分	E086
E086-1	2X Pro Ligation-Free全克隆预混液	200 μ l
E086-2	阳性对照插入片段	4 μ l
E086-3	阳性对照载体	16 μ l
E086-4	Assembly Enhancer连接增强剂	10 μ l
E086-5	Cloning Optimizer克隆优化剂	20 μ l
规格		20个反应

Pro Ligation-Free Cloning Kit 全克隆试剂盒(50 个反应):

组分号	成分	E087
E087-1	2X Pro Ligation-Free 全克隆预混液	500 μ l
E087-2	阳性对照插入片段	4 μ l
E087-3	阳性对照载体	16 μ l
E087-4	Assembly Enhancer连接增强剂	25 μ l
E087-5	Cloning Optimizer克隆优化剂	50 μ l
规格		50个反应

3. 保存条件

保存在-20℃，在适宜的条件下可稳定保存一年。2X Pro Ligation-Free Cloning 混合液、连接增强剂(Assembly Enhancer)和克隆增强剂(Cloning Optimizer)在使用时应放于冰上并避免反复冻融。

4. 其他材料需要

	材料	目的	推荐产品	货号
1	高保真 DNA聚合酶	PCR扩增插入片段/ 载体	2X PCR Bestaq™ MasterMix	G464 /G464- dye
2	琼脂糖 DNA染料	观察PCR产物	Agarose Safe-Green™	G060-2 G108
3	DNA 纯化试剂盒	纯化插入片段、消 除多余的扩增片 段、引物，缓冲 液等	DNA Gel Extraction Kit Column-Pure PCR Clean-Up Kit	D507 D509
4	感受态细胞	将重组载体转入大 肠杆菌	ProClone™ Competent Cells	B001/ B003
5	含有合适抗 生素的LB培 养板	药筛出阳性克隆 获得构建好的质粒	LB agar Ampicillin Kanamycin	G247 G021 G022
6	质粒纯化试 剂盒	在酶切筛选之前纯 化克隆质粒	Column-Pure Plasmid Mini-prep Kit	D504

*若凝胶没有显示其他多余的扩增条带，只需在PCR产物中加入连接增强剂 (Assembly Enhancer) 即可，无需加入其他柱纯化试剂。

5. 插入片段制备

5.1 PCR扩增插入片段的引物设计

正确的引物设计对于无缝克隆的成功与否是至关重要的。设计引物的实验操作流程如下图2所示。我们建议首先设计一个DNA序列文件，列出如何将插入基因构建到你的载体上的实验方案。然后，PCR引物的设计要包含每个相邻片段的一小部分序列。最后，每个引物的5'端要与相邻片段或载体的一段序列同源，3'端为插入片段的特异性序列。

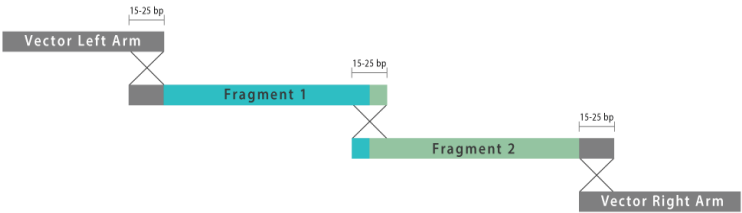


图2. 通过相邻同源序列连接PCR扩增产物的示意图

5.1.1 多个片段的引物设计

• 首先确定每个插入片段之间的连接处。

• 在每个相邻片段连接处选择一段15-25bp大小的同源序列(图3紫色方框表示)，每个同源序列都需要和每个片段完全吻合，这样片段才能按照要求的顺序连接。

注意：同源序列片段的选择，需要在整个质粒上是单一的，即不能落在质粒序列的重复区内。

• 设计引物当中插入片段的特异性区域时(不包括5'端相邻片段的同源序列)要考虑合理的PCR退火温度以及最小可能性的二级结构(图3，3'端序列箭头所指的位置)。

• 在每个引物5'端添加上相邻片段的同源序列(图3，5'端序列箭头所指的位置)。

注意：设计完成后的引物退火温度只以片段的特异性区域来计算，不包含5'端相邻片段的同源序列。

• 对于最外两侧的引物设计，请参照5.1.2和5.1.3部分。

• 用(F1-FP)+(F1-RP)引物对扩增片段1,(F2-FP)+(F2-RP)引物对扩增片段2,(F3-FP)+(F3-RP)引物对扩增片段3。



图3. 多个插入片段的引物设计。

上图为3个插入片段连接示意图，引物中插入片段的特异性序列(3'端箭头所指位置)与插入片段本身用同一颜色表示，引物中与相邻片段的同源序列(5'端箭头所指位置)用相邻片段同一颜色表示。15-25bp的相邻片段同源区域用紫色方框表示。

5.1.2 PCR扩增制备线性化载体的引物设计

- 确定插入片段和载体之间的连接部分。
- 在插入片段的上游或下游选择15-25bp长度的同源序列——这些序列也就是载体左侧和右侧的同源序列(图4, 紫色方框表示), 每个引物对都要有完全吻合的同源序列区域, 片段才能按照要求的顺序连接。
- 在设计线性化克隆载体的引物时要注意Tm值是否合适, 这些引物需要包括上一步骤提到的同源序列区域, 同时需要以反方向设计, 这样才能完成PCR的反向扩增(见图4), 同源序列引物的设计可以参照5.1.1中的理论。
- 扩增插入片段的引物设计, 请参照5.1.1部分。
- 下图(VP-FP)+(VP-RP)引物对用于PCR线性化克隆载体,(F1-FP)和(F1-RP)引物对用于扩增插入目的片段。



图4. 设计引物将插入片段克隆到PCR扩增得到的线性化载体中。

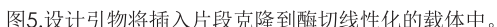
上面是一个片段克隆的示意图, 插入片段的特异性序列(3'端箭头所指位置)用蓝色表示, 同源序列(5'端箭头所指位置)用灰色表示。相邻片段15-25bp长度的同源区域用紫色方框表示。

- 确定酶切后克隆载体和插入片段之间的连接位点。

- 对于如何设计引物来扩增插入片段，请参照5.1.1。

- 用(F1-FP) 和(F1-RP)引物对进行PCR片段扩增。

•通过选择的限制性内切酶切割载体(图5, 粉色方框表示)。



上图是一个插入片段的克隆示意图，插入片段的特异性序列(3'端箭头所指位置)用蓝色表示，同源序列(5'端箭头所指位置)用灰色表示。酶切位点EcoRI和BamHI用粉色方框表示，插入片段和载体的15-25bp长度的同源序列用紫色方框表示。

5.1.4 引物设计其他注意事项

- 引物的3'端必须是目的基因插入片段的特异性序列，并依据该序列设计合理的Tm值以保证PCR反应的进行(该区域不包括5'端相邻片段的同源序列)。

- 条件允许时，建议引物的5'端的同源序列的Tm值在50℃左右。

• 正反引物的Tm值相差要小于5℃以保证扩增的顺利进行。或者，当引物设计存在困难无法顺利进行，推荐使用我们的PCR Sure™ Kit (Cat.No.G065)试剂盒，以保证PCR反应中完整的片段扩增。

5.2 PCR 扩增各插入片段

我们推荐使用abm的高保真DNA聚合酶 (2X PCR Bestaq™ MasterMix [Cat. No.G464]),用来扩增插入片段和载体。高保真酶有较强的扩增校对能力,可以减少错配,降低PCR扩增反应中突变的发生。如果PCR反应扩增出的插入片段无法通过胶回收纯化干净,那么一定要使用尽可能少的DNA模板,因为过多的质粒DNA会造成背景菌落的形成。少于10ng的质粒模板是最好的,但是如果一定需要大量的DNA模板,需要使用克隆优化剂(Cloning Optimizer) (详见5.3) 去处理PCR产物,防止背景菌落的形成。

PCR反应设置	
反应成分	加入量
2X PCR Bestaq™ MasterMix	25 µl
上游引物(10 µM)	1 µl
下游引物(10 µM)	1 µl
模板DNA	1 µl (10 ng)
无酶水	22 µl
总体积	50 µl

在PCR反应结束后,通过琼脂糖凝胶电泳分析扩增片段,使用SafeGreen™ Classic(Cat.No.G108)染料来确定目的DNA片段。如果出现一条单一、特异的目的条带,可以使用PCR Clean-Up Column Kit (Cat.No.D509) 或连接增强剂(Assembly Enhancer)对产物进行纯化。如果存在多条条带,需要将你的目的片段通过胶回收的方法分离出来。对于高通量扩增出的PCR产物,每一个PCR产物都要用连接增强剂处理(Assembly Enhancer)(详见5.3)。

最后,在克隆反应之前对插入目的片段的定量也是至关重要的。目的DNA的定量主要是通过紫外分光光度计的方法,或者与已知分子量的Maker在一块凝胶上进行电泳,比较其与目的条带亮度的方法,对DNA进行量化。

5.3 可选步骤 :连接增强剂(Assembly Enhancer)和克隆优化剂(Cloning Optimizer)处理目的片段

连接增强剂(Assembly Enhancer)可以使克隆步骤更为流畅,避免后续的额外操作。它适用于高通量的克隆反应,因为它可以直接加入到PCR产物中,并且可以在设置好的PCR程序中发挥作用。这种处理方式与典型的柱纯化试剂盒(产物丢失量>50%)相比可以大大减少PCR产物的丢失。

克隆优化剂(Cloning Optimizer)会裂解大肠杆菌Dam-甲基化的DNA,但不会裂解PCR扩增的DNA产物(因为产物没有被甲基化)。因此,它可以应用于降解质粒模板DNA,防止过多的DNA造成下游其他的负面影响(详见第9部分)。

- a. 在50 μ l的PCR产物中加入0.5 μ l的连接增强剂和1 μ l的克隆优化剂。
- b. 在37 $^{\circ}$ C下孵育30分钟,然后在PCR仪或者水浴锅中80 $^{\circ}$ C孵育20分钟。
- c. 冷却至室温后,加入到Pro Ligation-Free Cloning Reaction mixture 全克隆反应混合液中。

6. 线性化载体制备

载体的完全线性化是保证高克隆效率的关键，若载体线性化不完全则会导致背景菌落的高频产生。

载体的线性化可以通过酶切或PCR反向扩增来实现，也可以用克隆优化剂处理。

6.1 酶切法制备线性化载体方法

为了确保载体DNA的酶切完全，需要较长的消化时间，以及较高的酶/DNA比值。双酶切会产生无法匹配的粘性末端，随时消除载体自我连接的可能性。

a. 限制酶切反应的体系，如下：

酶切反应设置		
反应组分	克隆载体	阳性对照载体
载体	2 - 5 μg	4 μl (1 μg)
10X 反应缓冲液	4 μl	2 μl
限制内切酶 1	5 U*	EcoRI: 1 μl
限制内切酶 2	5 U*	XhoI: 1 μl
无酶水	加满至 40 μl	12 μl
总体积	40 μl	20 μl

*可以根据需要增加用量。

b. 根据酶的活性和效率，在适宜的温度下孵育1-4个小时。

c. 进行凝胶电泳，然后使用DNA Gel Purification Kit(Cat No.D507)试剂盒分离和纯化线性化载体。阳性对照载体用20 μl 洗脱液洗脱，样品克隆载体用30 μl 洗脱液洗脱。

d. 检查线性化载体是否完全，可以通过转化的方法将100ng(或1 μl)的纯化后的线性化载体转入ProClone™感受态细胞(Cat No.B001/B003)。如果获得的克隆数过多(>50个克隆)，重复胶回收纯化步骤并增加内切酶用量。

6.2 PCR扩增制备线性化载体方法

另外，可以设计引物来扩增质粒DNA，制备线性化载体，这种方法在之前插入片段的引物设计中介绍过(详见图4)。当使用这种方法的时候，它完全不依赖于限制性内切酶位点，可以将你的插入片段克隆到载体DNA的任何位点。然而，使用高保真的DNA聚合酶是至关重要的，因为它可以防止意外突变。不过这种方法在质粒长度超过8kb的情况下是不推荐使用的。

a. 使用高保真DNA聚合酶(abm 2X PCR Bestaq™ MasterMix [Cat.No. G464])建立的PCR反应体系可以应用于模板量约为10ng的载体。当然，模板使用量尽可能越少越好，这样可以减少背景菌落。

b. 进行凝胶电泳观察线性化载体。

c. 在没有非特异条带或多条带的情况下，分离并纯化DNA可以使用 PCR Clean-Up Column Kit 试剂盒 (Cat.No.D509) 或是胶回收试剂盒 (Gel Extraction Kit [Cat. No.D507])。

d. 如果你担心模板过多导致背景菌落的形成，可以在PCR反应中使用克隆优化剂 (Assembly Enhancer & Cloning Optimizer) (详见5.3)。

e. 如果需要检查你的载体线性化是否完全，可以将100ng(~1μl)纯化后的载体转化 ProClone™感受态细胞 (Cat. No. B001/B003)，查看菌落数。

7. 全克隆连接反应

在这个试剂盒中，有一个阳性对照，可以帮助您在实验室中成功建立全克隆的流程。阳性对照包含一个4.8kb的环状载体和一个0.7kb纯化后的插入片段，来用于克隆反应。

注意：在继续克隆反应之前，请参考6.1部分中的操作，先用EcoRI和XhoI线性化阳性对照载体。

a. 在冰上，0.2ml的PCR管中设置克隆反应。

全克隆反应设置			
反应组分	样本反应	阳性对照反应	阴性对照反应
2X Pro Ligation-Free 全克隆预混液	10 μ l	10 μ l	10 μ l
酶切后的载体 (来自6.1部分)	100 ng	9 μ l 酶切后的阳性 对照载体	100 ng
插入片段	3:1 插入片段-载体 摩尔比为3:1*	1 μ l 阳性对照片段	-
无酶水	加满至20 μ l	-	加满至 20 μ l
总体积	20 μ l**	20 μ l	20 μ l

* 用以下公式计算每个插入片段需要加的量：

$$\text{片段}(\text{ng}) = 3 \times \frac{\text{片段}(\text{bp})}{\text{载体}(\text{bp})} \times \text{载体}(\text{ng})$$

** 如果反应体系大于20 μ l，需要额外补加2X Pro Ligation-Free全克隆预混液，并根据体积稀释到1x浓度(例：30 μ l的总体积需要加15 μ l的预混液)。

b. 吹打混匀反应并且在PCR仪或水浴锅中50℃按如下条件孵育：

单片段插入时，孵育15分钟

多片段插入，或连接难度片段时，孵育1小时

c. 立刻转化，或保存在-20℃中待用。

8. ProClone™ 质粒转化

- a. 加入前面配好的反应混合液 (20 μ l) 到60 μ l ProClone™ 感受态细胞中 (Cat NO. B001/B003), 混合均匀。
- b. 混合物在冰上孵育30分钟。
- c. 42℃热激45秒, 然后冰上降温2分钟。
- d. 在转化后的感受态细胞中加入150 μ l的LB培养基(无抗生素并且室温操作)。
- e. 在摇床中37℃震荡(250rpm)1小时, 使细胞恢复。
- f. 在预热好的, 加入合适抗生素的LB培养板中, 铺入转化的感受态细胞。
- g. 37℃孵育培养板过夜。
- h. 第二天观察培养板, 阴性对照的板子应该只有少量的菌落。
- i. 在质粒提取之后, 用菌落PCR(使用与获得产物匹配的引物)或者酶切验证的方式来筛选菌落。注意, 用EcoRI和XhoI来酶切筛选阳性对照的菌落。正确的菌落应该在EcoRI/XhoI酶切后有0.7kb插入片段和4.8kb载体的掉带。

9. 问题排除指南

如果您根据这个操作指导，没有得到预期的结果，请参考以下的表格来帮助您更有效的排除实验中可能的问题。

问题	可能造成的原因	解决建议
没有菌落	转化效率低	• 设置一个阳性对照转化来优化条件。 • 确保感受态细胞之前没有被反复冻融，解冻后就立刻沉降的感受态细胞很可能已经死亡。 • 请确保根据载体上的选择标记，使用了正确的抗生素。 • 用未酶切的pUC19转化感受态细胞，在氨苄青霉素的培养板上铺板，验证感受态细胞的效率。
	亚克隆的条件优化	• 检查引物设计，确保同源臂部分的序列是15-25bp，同源臂部分的Tm值尽量在50℃左右。 • 检查片段和载体的摩尔比是不是3:1。 • 重新核实载体和插入片段的浓度和加入量。
	载体或者插入片段DNA中的杂质	• 用试剂盒中的Assembly Enhancer处理载体和片段的PCR产物，或者用DNA纯化试剂盒去除任何可能潜在的抑制物。 • 只要条件允许，片段和载体都要进行胶回收。
菌落过多	培养板失效	核实抗生素培养板是新鲜的 (2周以内)。
	反应效率过高	• 将实验组培养板和阴性对照相比。如果实验组的菌落数大于阴性对照的菌落，那么克隆反应很可能是成功的，建议恢复后的感受态细胞稀释几倍再铺板。 • 如果实验组的菌落数和阴性对照的菌落相同，那么克隆反应很可能不成功，请看下一个表格来分析更多的原因。

问题	可能造成的原因	解决建议
无插入片段	载体线性化不完全或是PCR中残留的环状DNA模板	• 设置一个酶切完全的载体对照组(增加内切酶的使用量并延长酶切时间) • 再用Cloning Optimizer处理之后 (详见5.3)，PCR得到的线性化载体要再做一次胶回收.
不正确的质粒	PCR质粒模板被有同样筛选标记的DNA污染了	• 在用 Cloning Optimizer处理之后 (详见5.3)，PCR得到的线性化载体要再做一次胶回收 • 再一次转化目标载体，并且挑单克隆来去除其他的混合质粒；通过测序来保证得到的载体是正确的，然后再重新做实验.
不正确的插入片段	插入片段的PCR扩增不特异，存在多个PCR产物	• 优化PCR条件或者切胶回收正确的条带 • 在继续实验之前，对PCR产物进行测序，确保片段是正确的
	插入片段可能对大肠杆菌有毒性	• 可以考虑用诱导启动子启动插入片段，或者将片段更换到一个低拷贝载体上

Applied Biological Materials Inc.

Canada/USA

Telephone:

(8:30am - 4:30pm PST, Mon - Fri)

Toll Free: 1-866-757-2414

Local: 604-247-2416

Fax: 604-247-2414 (24Hr.)

China

镇江爱必梦生物科技有限公司

江苏省镇江市京口区国家大学科技园中心研

发区B14栋3层邮编212009

电话: 0511-83367989

电邮: order.china@abmGood.com

网站: www.abmGood.com

Address:

Suite #1-3671 Viking Way

Richmond, BC, Canada V6V 2J5

Email:

General Information: info@abmGood.com

Order: order@abmGood.com

Technical Support: technical@abmGood.com

Business Development: bd@abmGood.com

Website: www.abmGood.com

Distributors

Australia

resolvingIMAGES

sales@resolvingimages.com

Belgium

Immunosource bvba-sprl

info@immunosource.com

Brazil

GBT Biosciences

vendas@gbtbiosciences.com

China

昆明硕阳科技有限公司

ynpengyifengcx@163.com

China

杨凌百奥试剂经营部

782144806@qq.com

China

河北本元生物科技有限公司

benyuanshengwu@126.com

Columbia

Biopetrolabs de Colombia Ltda

biopetrolabsltida@gmail.com

Czech Republic

TATAA Biocenter

prague@tataa.com

Denmark

TATAA Biocenter

order@tataa.com

France

antibodies-online/genomics-online

GmbH

orders@anticorps-enligne.fr

Germany

BioCat GmbH

info@biocat.com

Greece

BioSure

spanos@biosure.gr

India

BioSquare Biotechnologies Pvt Ltd

biosquarebio@gmail.com

Austria

THP Medical Products

office@thp.at

Belgium

Gentaur

ea@gentaur.com

China

银川伟博鑫生物科技有限公司

weimin00518@163.com

China

武汉聚能慧达生物有限公司

dengwang@juneng-bio.com

China

青岛科尔德科贸有限公司

13864211788@163.com

China

黑龙江泰康生物科技有限公司

3191039740@qq.com

Cyprus

BioSure

spanos@biosure.gr

Czech Republic

BioVendor - Laboratorní medicína, a.s.

stursa@biovendor.cz

Ecuador

Bio Pro Solutions

a.mera@gmail.com

France

Gentaur

ea@gentaur.com

Germany

antibodies-online/genomics-online

GmbH

orders@antikoerper-online.de

Hong Kong

LOKCO Technology Limited

info@LOKCO.com.hk

India

BIOLINKK

customerservice@biolinkk.com

Bangladesh

Essential Scientifics

farhan@essentialsci.com

Brazil

Lab Research Corp

vendas@lab-research.com

China

南宁基诺生物技术有限公司

13481034470@163.com

China

广州爱柏梦生物科技有限公司

2044309513@qq.com

China

天津普瑞思生物科技有限公司

Jeffersonyan@126.com

China

大连辰钰生物科技有限公司

dlchenyu2@126.com

Czech Republic

Bohemia Genetics S.R.O.

info@bohemiagenetics.cz

Czech Republic

Mir Biotech s.r.o.

info@mirbiotech.com

Egypt

Alex Biotechnology

alexbiotechnology@gmail.com

France

Euromedex

info@euromedex.com

Germany

SCHOLZ Labor GmbH

daniel.boss@s-scholz-gmbh.de

Hong Kong

Dr. Lab Technology Company

info@drlab.co

India

Life Expression

info@life-expression.com

Iran
Gene Ziest Yakhteh Co.
info@geneziestyakhteh.com

Italy
Gentaur
italia@gentaur.com

Italy
Aurogene S.R.L.
info@aurogene.eu

Luxembourg
Immunosource bvba-sprl
info@immunosource.com

Malaysia
Wan Care Medical Sdn Bhd
wan.wancare@gmail.com

Netherlands
Gentaur
nl@gentaur.com

New Zealand
resolvingIMAGES
sales@resolvingimages.com

Oman
Future Innovation Projects
info@innovation.com

Pakistan
Molecular Biology Products
info@mbpinc.net

Poland
Gentaur
poland@gentaur.com

Russia
Chembiotech OOO
info@mirbiotech.com

Singapore
Simply Science
info@simplysci.com

Slovakia
Mir Biotech s.r.o.
info@mirbiotech.com

Spain
Innovative Techn. in Bio. Systems
orders@innoprot.com

Sweden
TATAA Biocenter
order@tataa.com

Taiwan
Interlab Co. Ltd.
edward@interlab.com.tw

Turkey
Alfagen Labwares Ltd. Co.
info@alfagen.com.tr

Vietnam
Bio-techem Co., Ltd.
kimanh.tran@biotechem.com.vn

Iraq
Iraq Biotech
info@iraqbiotech.com

Italy
SIAL s.r.l.
info@sialgroup.com

Japan
Cosmo Bio Co. Ltd.
mail@cosmobio.co.jp

Macau
LOKCO Technology Limited
info@LOKCO.com.hk

Mexico
Probiotek
info@probiotek.com

Netherlands
Immunosource bvba-sprl
info@immunosource.com

Nigeria
African Biosciences Ltd.
info@africanbio.com

Pakistan
FY Diagnostics
info@fybreeds.com

Peru
GenLab del Peru
ventas@genlabperu.com

Portugal
IBIAN TECHNOLOGIES, S.L.
info@ibiantech.com

Russia
ACRUS
u116@acrus.ru

Slovakia
THP Medical Products
office@thp.at

Slovenia
THP Medical Products
office@thp.at

Spain
IBIAN TECHNOLOGIES, S.L.
info@ibiantech.com

Switzerland
abc biopply
service@biopply.com

Taiwan
Bio Pioneer Tech Co.,Ltd.
tding.science@msa.hinet.net

United Kingdom
NBS Biologicals Ltd.
info@nbsbio.co.uk

Africa
DivBioScience Africa
orders@divbio.co.za

Israel
BioConsult
sales@bioconsult.co.il

Italy
MICROTECH s.r.l.
microtech@microtech.eu

Latvia
DIAMET SIA
diamet@diamet.lv

Malaysia
Biomax Scientific Sdn Bhd
sales@biomaxsci.com

Mexico
Cipquim S.A de C.V
luisp@cipquim.com

Netherlands
Divbio Science Europe
info@divbio.nl

Norway
TATAA Biocenter
order@tataa.com

Pakistan
Friends Scientific Corporation
friendspakistan@yahoo.com

Poland
BIOLIM
paulina.lemanczyk@biolim.pl

Puerto Rico
J.C. Gonzalez, Inc.
sales@jcgonzalezinc.com

Singapore
Bio-REV PTE Ltd
sales@bio-rev.com

Slovakia
TATAA Biocenter
prague@tataa.com

South Korea
ITSBio, Inc.
bclim@itsbio.co.kr

Sri Lanka
S&D Associates
miclab@sdchemlanka.com

Taiwan
BIOTOOLS CO., LTD
info@toolsbiotech.com

Thailand
iScience Technology Co., Ltd.
Tel: (66)2-5091623-24

USA
genomics-online/antibodies-online
Tel: 877-302-8632