## 产品组分

| 组分名称 | 组分编号 | 规格 1 | 规格 2 |
|---|---|---|---|
| 2X MultiF Seamless Assembly Mix* | RM20523 | 100 μL | 2 × 250 μL |

*，注：使用前需完全解冻并摇匀，置于冰上备用，使用过程中避免反复冻融。

## 产品说明

ABclonal 2X MultiF Seamless Assembly Mix 是一款简单、快速、高效的无缝克隆试剂，可以将插入片段定向克隆至任意载体的任意位点，一次实现多至 5 个插入片段的特定顺序组装克隆，无需考虑插入片段自身携带的酶切位点。在克隆前，需要先将载体进行线性化，并在插入片段正反向 PCR 引物引入线性化载体末端序列，使得 PCR 产物 5'和 3'末端分别带有和线性化载体两端一致的同源序列（15-25 bp）。这种带有载体末端同源序列的 PCR 产物和线性化载体以一定比例混合，在重组酶的作用下，50℃反应 15-60 min 即可以完成重组。

本试剂为 2X 预混液形式，包含优化的反应缓冲液和增强的酶混合物，可显著提高片段的组装效率与对杂质的耐受度，无缝组装后的产物是完全封闭的双链 DNA，可直接用于下一步 PCR、RCA 或其它分子生物学操作（例如转化到感受态细胞）。

## 产品特点

- ◆ 快速简便：与传统克隆相比，操作便捷，时间短；
- ◆ 高效率：阳性克隆率高；
- ◆ 高通量：一次实现多至 5 个插入片段组装克隆；
- ◆ 灵活性：多种载体任意位置克隆；
- ◆ 可靠：预混合即用型试剂，过程简单，保证了精确性和可重复性。

## 产品应用

快速克隆；高通量克隆；无缝克隆；DNA 定点突变

## 保存温度

-20℃保存，避免反复冻融

## 自备材料

- 扩增插入片段的模板和引物；线性化载体。
- 高保真 DNA 聚合酶，推荐 ABclonal RK20731/RK20730。
- 内切酶 DpnI，用于去除 PCR 产物中的甲基化 DNA 模板，推荐 ABclonal RK21109。
- 感受态细胞：

  常规克隆，质粒<15 kb，推荐使用 DH5α Competent E. coli（ABclonal CD001）或其他等效感受态细胞；

  大片段克隆，质粒>10 kb，推荐使用 XL10 Competent E. coli 或其他等效感受态。
- 其他材料：无酶水、PCR 管、PCR 仪、带对应抗性的 LB 平板。



E-mail:cn.market@abclonal.com
TEL:400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

## 实验步骤

### 1. 单片段克隆

#### 1.1 线性化载体制备

选择合适的克隆位点，对载体进行线性化处理。推荐选择无重复序列且载体克隆位点上下游 15-25 bp 区域内 GC 含量均在 40-60%的位点进行克隆。载体线性化方式可以选择酶切或反向 PCR 扩增。

酶切法制备线性化载体：

推荐使用双酶切法，适当延长酶切时间，使载体线性化完全，减少环状质粒残留，降低转化背景(假阳性克隆)。

反向 PCR 扩增制备线性化载体：

推荐使用高保真酶（ABclonal RK20731/RK20730）扩增载体，以减少扩增突变的引入。50 μL 的 PCR 反应体系中，推荐使用 0.1-1 ng 环状质粒模板，或使用预线性化质粒作为模板，以减少环状质粒模板的残留对克隆阳性率的影响。

#### 1.2 引物设计

在插入片段正反向扩增引物的 5'端引入线性化载体两末端同源序列(15-25 bp)。插入片段上下游扩增引物设计方式为：

5'-上游载体末端同源序列 + 酶切位点(可保留或删除)+ 基因特异性正向扩增引物序列-3'

5'-下游载体末端同源序列 + 酶切位点(可保留或删除)+ 基因特异性反向扩增引物序列-3'

**注：基因特异性正/反向扩增引物序列即常规插入片段正/反向扩增引物序列，Tm 值 60-65°C 为佳；**

**上/下游载体末端同源序列即线性化载体最末端序列(用于同源组装)，GC 含量在 40-60%之间为佳。**

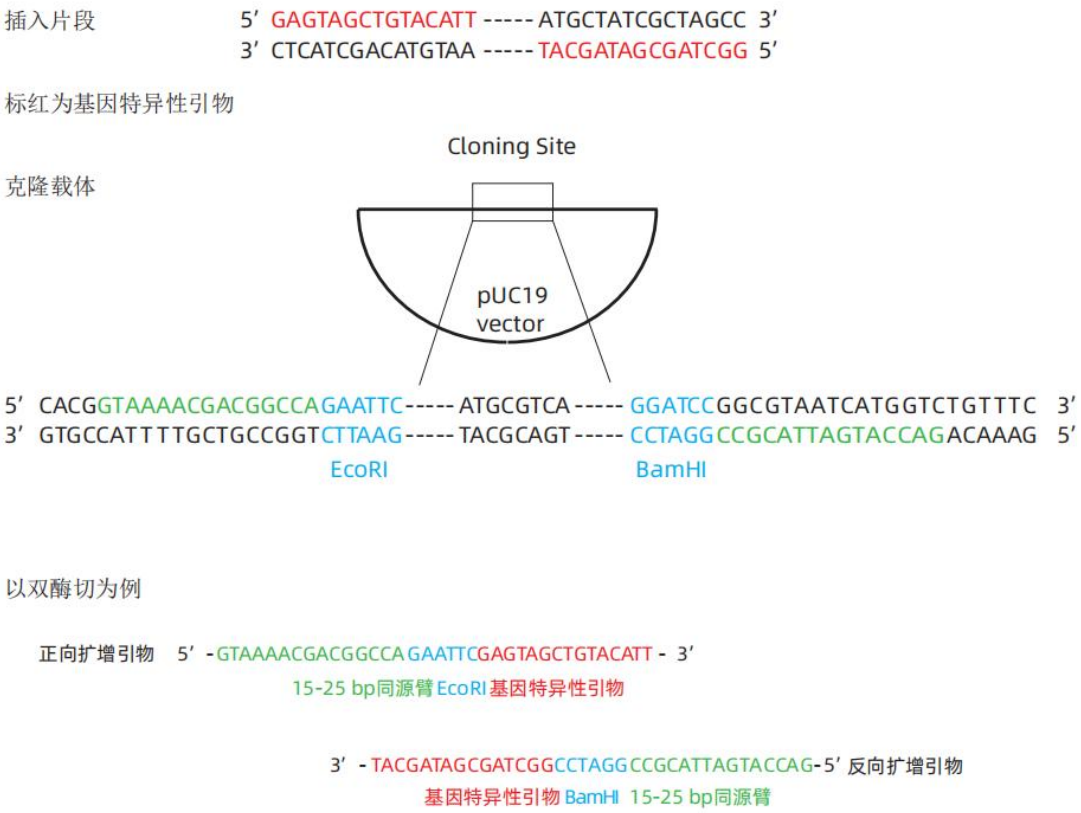


**Fig 1. 插入片段扩增引物设计方案（单片段克隆）**



E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

### 1.3 含同源序列的DNA片段的制备

含同源序列的 DNA 片段可使用任意 PCR 聚合酶（Taq 酶或高保真酶）扩增，无需考虑 PCR 产物末端有无 dA 尾（组装过程中将被去除，在最终载体中不会出现）。但为了减少扩增突变的引入，推荐使用高保真 DNA 聚合酶（如 ABclonal RK20731/RK20730）进行扩增。

### 1.4 DpnI去除甲基化PCR模板(可选步骤)

以环状质粒为模板时，用 DpnI 消化 PCR 产物中的质粒模板，消化后纯化回收，减少环状质粒模板残留对克隆阳性率的影响。DpnI 只消化被 *E. coli* Dam 甲基化酶甲基化的质粒 DNA，而不切割未甲基化的 DNA(PCR 产物)。推荐使用 ABclonal 限制性内切酶 DpnI（RK21109）。

### 1.5 线性化载体与插入片段的最佳使用量

重组反应中线性化载体最适使用量为 0.03 pmol，最适载体和插入片段摩尔比为 1:2 或 1:3，以 1:2 为例：

**最适线性化载体使用量**（0.03 pmol）=【0.02 x 碱基对数】ng

**最适插入片段使用量**（0.06 pmol）=【0.02 x 碱基对数 X2】ng

例如，将长度 2 kb 的片段插入到 5 kb 的载体上，载体最适用量为 0.02 x 5000=100 ng，插入片段的最适用量为 0.02 x 2000 x 2=80 ng。

**注 1：当插入片段长度大于克隆载体时，最适克隆载体与插入片段使用量的计算方式应互换，即将插入片段当做克隆载体，克隆载体当做插入片段进行计算。**

**注 2：当插入片段小于 200 bp 时，最适载体和插入片段摩尔比应为 1：5；当使用未纯化的 PCR 片段时，加入体积不得超过总体积的 20%。**

### 1.6 组装反应

在冰上按下表配制反应体系：

**推荐的反应体系**

| 组分 | 加入量 |
|---|---|
| 线性化载体 | X μL |
| 插入片段 | Y μL |
| 2X MultiF Seamless Assembly Mix | 10 μL |
| $ddH_2O$ | To 20 μL |

**推荐的反应条件**

| 组装实验 | 单片段组装 |
|---|---|
| 反应温度 | 50°C |
| 反应时间 | 15 min |

**注：反应结束后置于冰上，立即转化。若不能及时转化，请置于-20°C 长期保存。**

### 1.7 组装产物转化和鉴定

- 在冰上解冻克隆用的感受态细胞(如：DH5α Competent *E.coli* Strain)；
- 取 5 μL 组装产物加入到 100 μL 感受态细胞中(重组产物体积不要超过感受态细胞体积的 10%)，轻弹管壁混匀(请勿振荡混匀)，冰上静置 30 min；
- 42°C水浴热激 45 s 后，立即置于冰上冷却 2-3 min；
- 加入 900 μL SOC 或 LB 培养基(不含抗生素)，37°C摇菌 1 hr (转速 200-250 rpm)；
- 4000 rpm 离心 3min，弃掉 800 μL，用剩余的 200 μL 液体重悬，在含有正确抗性的平板上进行涂板培养；
- 37°C过夜培养后，平板上可形成数百个单克隆，挑取若干单克隆进行菌落或菌液 PCR 或一代测序的方法鉴别。



E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

## 2. 多片段克隆

### 2.1 线性化载体制备

选择合适的克隆位点，对载体进行线性化处理。推荐选择无重复序列且载体克隆位点上下游 15-25 bp 区域内 GC 含量均在 40-60%的位点进行克隆。载体线性化方式可以选择酶切或反向 PCR 扩增。

酶切法制备线性化载体：

推荐使用双酶切法，适当延长酶切时间，使载体线性化完全，降低转化背景(假阳性克隆)。

反向 PCR 扩增制备线性化载体：

推荐使用高保真酶（ABclonal RK20731/RK20730）扩增载体，以减少扩增突变的引入。50 μL 的 PCR 反应体系中，推荐使用 0.1-1 ng 环状质粒模板，或使用预线性化质粒作为模板，以减少环状质粒模板的残留对克隆阳性率的影响。

### 2.2 引物设计（以0.5 kb，1 kb，2 kb三个片段插入为例）

两侧片段与载体重组端的引物设计

**最上游片段正向扩增引物：** 5'-上游载体末端同源序列 + 酶切位点(可保留或删除)+ 基因特异性正向扩增引物序列-3'

**最下游片段反向扩增引物：** 5'-下游载体末端同源序列 + 酶切位点(可保留或删除)+ 基因特异性反向扩增引物序列-3'

**中间各插入片段扩增引物：** 用于片段之间进行重组的同源序列可以添加至前方片段的反向扩增引物中，也可以添加至后方片段的正向扩增引物中，还可以两片段各添加一部分。以图中多片段为例，虚线表示片段分隔，详细如图 2 所示。

**注：基因特异性正/反向扩增引物序列即常规插入片段正/反向扩增引物序列，Tm 值 60-65°C 为佳；**
**上/下游载体末端同源序列即线性化载体最末端序列(用于同源组装)，GC 含量在 40-60%之间为佳。**

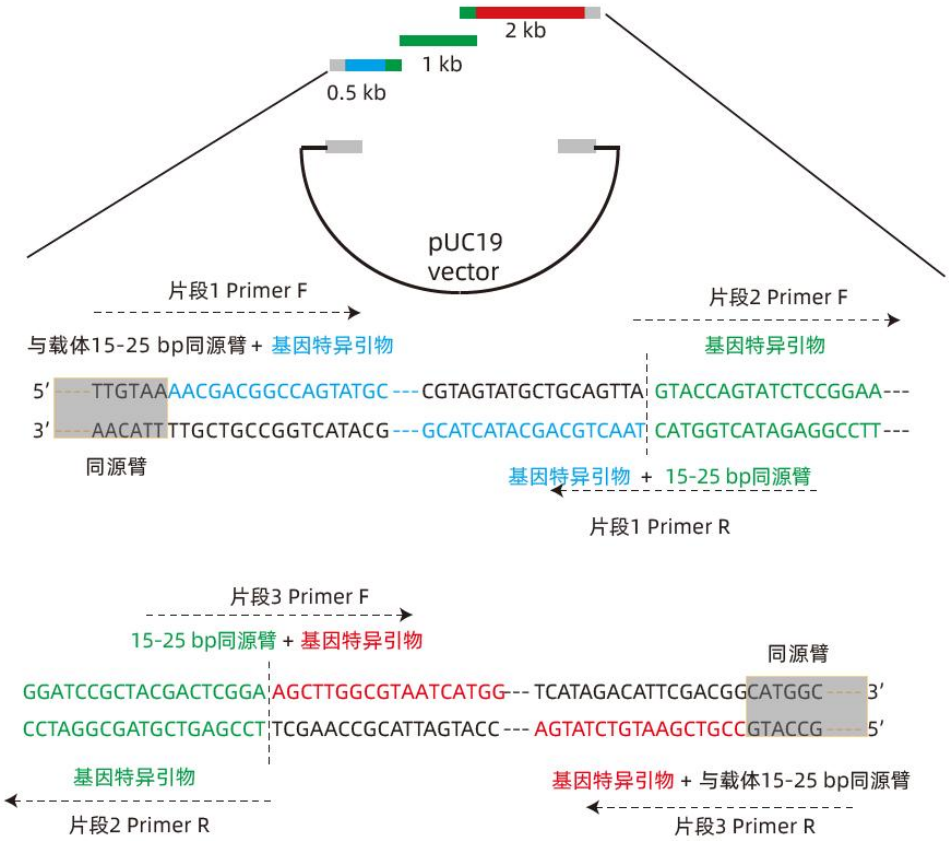


**Fig2. 多片段引物设计方案**



E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

### 2.3 含同源序列的DNA片段的制备

含同源序列的 DNA 片段可使用任意 PCR 聚合酶（Taq 酶或高保真酶）扩增，无需考虑 PCR 产物末端有无 dA 尾（组装过程中将被去除，在最终载体中不会出现）。但为了减少扩增突变的引入，推荐使用高保真 DNA 聚合酶（如 ABclonal RK20731/RK20730）进行扩增。

### 2.4 DpnI去除甲基化PCR模板(可选步骤)

以环状质粒为模板时，用 DpnI 消化 PCR 产物中的质粒模板，消化后纯化回收，减少环状质粒模板残留对克隆阳性率的影响。DpnI 只消化被 *E. coli* Dam 甲基化酶甲基化的质粒 DNA，而不切割未甲基化的 DNA（PCR 产物）。推荐使用 ABclonal 限制性内切酶 DpnI（RK21109）。

### 2.5 载体/插入片段使用量

重组反应中线性化载体和各插入片段的最适使用量为 0.03 pmol，最适载体和各插入片段摩尔比为 1:1

**最适插入片段使用量**（0.03 pmol）=【0.02 x 碱基对数】ng

**最适线性化载体使用量**（0.03 pmol）=【0.02 x 碱基对数】ng

例如，将 0.5 Kb（片段 1）、1 kb（片段 2）和 2 Kb（片段 3）的插入片段同时克隆至 5 kb 的载体上，

线性化载体的最适用量为 0.02 x 5000=100 ng；

0.5 Kb（片段 1）最适用量：0.02 x 500=10 ng；

1 kb（片段 2）最适用量：0.02 x 1000=20 ng；

2 Kb（片段 3）最适用量：0.02 x 2000=40 ng。

**注：当插入片段小于 200 bp 时，最适载体和插入片段摩尔比应为 1：5；当使用未纯化的 PCR 片段时，加入体积不得超过总体积的 20%。**

### 2.6 组装反应

在冰上按下表配制反应体系：

**推荐的反应体系**

| 组分 | 加入量 |
|---|---|
| 线性化载体 | X μL |
| 插入片段 | $Y_1+Y_2+...Y_n$ μL |
| 2X MultiF Seamless Assembly Mix | 10 μL |
| $ddH_2O$ | To 20 μL |

**推荐的反应条件**

| 组装实验 | 多片段组装 |
|---|---|
| 反应温度 | 50°C |
| 反应时间 | 30-60 min |

**注：反应时间请勿超过 60 min，反应结束后置于冰上，立即转化。若不能及时转化，请置于-20°C 长期保存。**

### 2.7 组装产物转化和鉴定

- 在冰上解冻克隆用的感受态细胞(如：DH5α Competent *E.coli* Strain)；
- 取 5 μL 组装产物加入到 100 μL 感受态细胞中(重组产物体积不要超过感受态细胞体积的 10%)，轻弹管壁混匀(请勿振荡混匀)，冰上静置 30 min；
- 42°C水浴热激 45 s 后，立即置于冰上冷却 2-3 min；
- 加入 900 μL SOC 或 LB 培养基(不含抗生素)，37°C摇菌 1 hr (转速 200-250 rpm)；



E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

- 4000 rpm 离心 3min，弃掉 800 μL，用剩余的 200 μL 液体重悬，在含有正确抗性的平板上进行涂板培养；
- 37℃过夜培养后，平板上可形成数百个单克隆，挑取若干单克隆进行菌落或菌液 PCR 或一代测序的方法鉴别。

## 3. 定点突变

### 3.1 引物设计

无论是单点突变还是不连续位点突变，在突变位点附近，设计一对含有 15-25 bp 反向互补序列的引物（如图 3 所示）。如果突变位点设计在反向互补区域，需在两条引物上均引入突变位点；如果突变位点设计在引物的非互补区域，仅需在一条引物上引入突变位点，请勿将突变位点放于引物的 3'末端。

### 3.2 目标质粒的制备

为了减少环状质粒模板残留对克隆阳性率的影响，在质粒能正常扩增的前提下，应尽量减少质粒使用量，推荐使用≤1 ng 新鲜提取的质粒作模板。由于单点突变的 DNA 片段与质粒大小相当，为了减少扩增突变的引入，推荐使用高保真 DNA 聚合酶（如 ABclonal RK20731/RK20730）进行扩增。其中多位点片段的制备注意使用交错引物获得相应的 AB（F1R2），BC（F2R3）和 CA（F3R1）三个 DNA 片段，如图 3 所示。

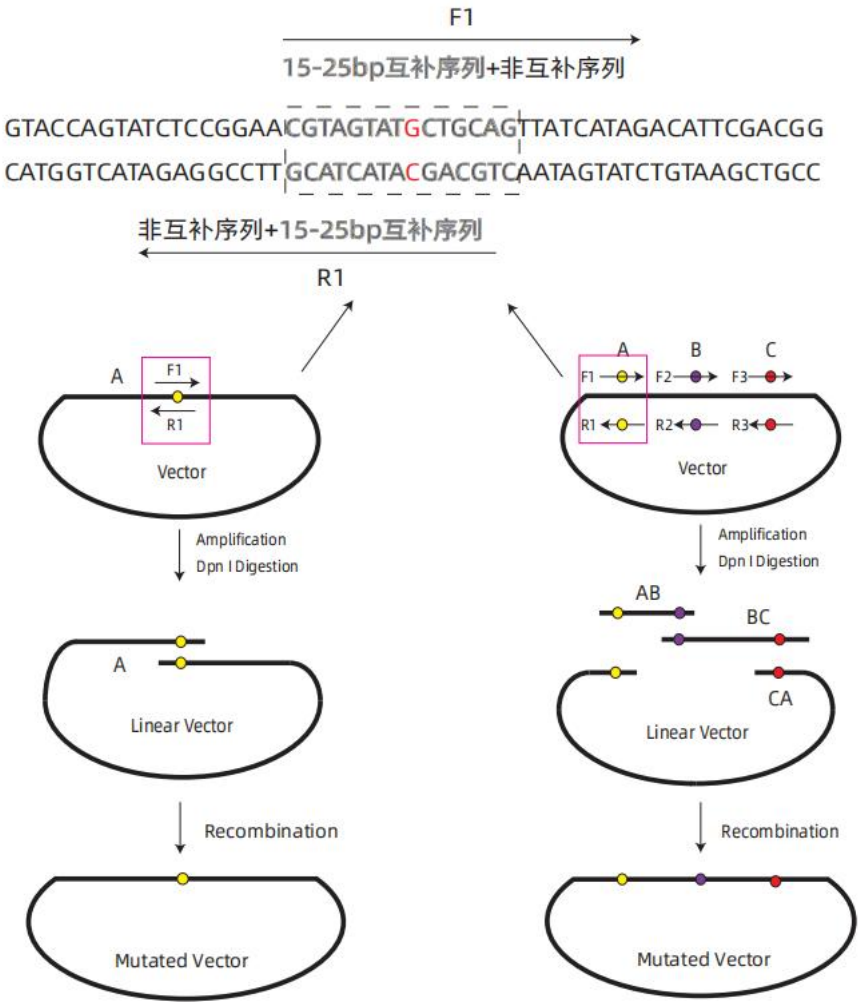


**Fig3. 单点突变（左）及多点突变（右）引物设计原理图**


E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126
For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

### 3.3 扩增产物DpnI消化

用 DpnI 消化 PCR 产物中的原始质粒模板，DpnI 只消化被 *E. coli* Dam 甲基化酶甲基化的质粒 DNA，而不切割未甲基化的 DNA（PCR 产物)。推荐使用 ABclonal 限制性内切酶 DpnI（RK21109）。推荐 Dpn I 消化结束后对目标扩增产物进行胶回收纯化，减少假阳性。

### 3.4 组装反应

#### 3.4.1 单点突变

单点突变反应最适 DNA 使用量为 0.03 pmol（ [0.02 X 目标质粒碱基对数] ng）。

若载体大小为 5Kb，突变 DNA 片段最适使用量= （0.02 X 5000）ng =100 ng

#### 3.4.2 多点突变

多点突变重组反应最适 DNA 使用量为每个片段 0.03 pmol，例如，AB 段长度为 0.5 kb，BC 段长度为 1 kb，CA 段即载体长度为 5 kb。产物最适使用量为：

AB 段 0.02 × 500 = 10 ng；

BC 段 0.02 × 1000 = 20 ng；

CA 段 0.02 × 5,000 = 100 ng。

在冰上按下表配制反应体系：

**推荐的反应体系**

| 组分 | 加入量 | |
|---|---|---|
| | 单点突变组装 | 不连续多点突变组装 |
| 线性化消化产物 | X μL | $X_1+X_2+...+X_n$ μL |
| 2X MultiF Seamless Assembly Mix | 10 μL | 10 μL |
| $ddH_2O$ | To 20 μL | To 20 μL |

**推荐的反应条件**

| 组装实验 | 单位点突变 | 不连续多点突变 |
|---|---|---|
| 反应温度 | 50°C | 50°C |
| 反应时间 | 15 min | 30-60 min |

### 3.5 组装产物转化和鉴定

- 在冰上解冻克隆用的感受态细胞(如：DH5α Competent *E.coli* Strain)；
- 取 5 μL 组装产物加入到 100 μL 感受态细胞中(重组产物体积不要超过感受态细胞体积的 10%)，轻弹管壁混匀(请勿振荡混匀)，冰上静置 30 min；
- 42℃水浴热激 45 s 后，立即置于冰上冷却 2-3 min；
- 加入 900 μL SOC 或 LB 培养基(不含抗生素)，37℃摇菌 1 hr (转速 200-250 rpm)；
- 4000 rpm 离心 3min，弃掉 800 μL，用剩余的 200 μL 液体重悬，在含有正确抗性的平板上进行涂板培养；
- 37℃过夜培养后，平板上可形成数百个单克隆，挑取若干单克隆进行菌落或菌液 PCR 或一代测序的方法鉴别。


E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126
For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

## 注意事项

为了保证成功的组装和转化，需注意以下操作事项：

- 细胞：各种感受态细胞的转化效率可能差多个数量级；克隆的成功率直接与感受态的转化效率相关。
- 电转：电转可以使转化的效率提高多个数量级。当使用 MultiF Seamless Assembly Mix 组装产物进行电转时，必须将产物用水稀释三倍后，再取 1 μL 稀释产物（适用于 50 μL 电转感受态细胞）用于转化。
- DNA：若 PCR 产物体积小于 MultiF Seamless Assembly 反应总体积的 20%，则 PCR 产物不需纯化即可直接使用。若 PCR 产物体积过高，由于过量的 PCR 反应液和残留的引物影响，会降低 MultiF Seamless Assembly 的组装效率和转化效率。纯化 PCR 产物后可以将 MultiF Seamless Assembly 的组装和转化效率提高 2-10 倍。因此，当组装片段大于 3 个或组装片段长度大于 5 kb 时，强烈推荐对 PCR 产物进行纯化。纯化后的 DNA 产物可溶于 $ddH_2O$、TE 或其他低 EDTA 的稀释液中。
- 生物学因素：一些 DNA 结构，例如反向或串联重复序列，会被 *E.coli* 选择性排斥。有一些重组蛋白可能具有一定的细胞毒性，*E.coli* 不能很好的耐受这些蛋白。这些原因都会导致出现的克隆或者菌落很少。

## 常见问题及解决方法

### 1. 引物如何设计？

- 引物三部分：同源臂(15-25 bp，GC 含量 40-60%) + 酶切位点(根据实验需求保留或者删除) + 特异性引物(引物 Tm 值的计算不包括同源臂的序列)。

### 2. 平板上未长出克隆或克隆数目很少。

- 引物设计不正确：引物应包含 15-25 bp 同源臂，GC 含量在 40-60%之间。
- 线性化载体和插入片段的 PCR 产物使用量不足/过量，或者比例不佳：尽量按照说明书中推荐的量和比例配制组装反应体系。
- 载体和插入片段不纯，抑制反应：未纯化 DNA 的使用体积不应超过 4 μL (不超过反应总体积的 20%)；建议线性化载体、PCR 产物进行凝胶回收纯化，纯化产物溶于无酶水中。
- 感受态细胞转化效率低：感受态细胞的转化效率应大于 $10^7$ cfu/μg。可对转化效率进行简单检测，例如转化 1 ng pUC19 质粒，取 1/10 进行涂板，生长 1,000 个菌斑，估算转化效率为 $10^7$ cfu/μg。组装产物的转化体积不应超过感受态细胞体积的 1/6，否则会降低转化效率；选择克隆用感受态细胞(如 DH5α/XL10)，不能选择表达感受态细胞。

### 3. 多数克隆不含插入片段或含有不正确的插入片段。

- PCR 产物中含有非特异性扩增产物：优化 PCR 体系，提高特异性；胶回收 PCR 产物；鉴定更多的克隆。
- 克隆载体线性化不完全：可通过阴性对照检测载体是否线性化完全，优化酶切体系，增加限制性内切酶使用量、延长酶切反应时间、胶回收纯化酶切产物。
- 反应体系中混入了相同抗性的质粒：PCR 扩增模板为环状质粒时，如扩增产物未纯化直接用于组装反应时推荐 DpnI 酶切，或者对扩增产物进行切胶回收纯化。

### 4. 菌落PCR无条带。

- 引物不正确：推荐使用载体的通用引物进行鉴定（至少使用一条通用引物）。
- PCR 反应体系或程序不合适：没有目的条带也没有空质粒条带，建议优化 PCR 体系、程序；或者提取质粒，以质粒做模板 PCR 验证；或者进行酶切验证。
- 组装失败：只有空质粒的条带，说明组装不成功，载体线性化不完全，建议优化酶切体系。


E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126
For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

## Q&As

### 1. 可以组装多大的片段？

从 20 bp 左右的小片段到 10 kb 左右的大片段都可以成功插入。

### 2. 一次反应最多可以组装多少个片段？

一次反应可以组装的 DNA 片段数量依赖于片段的长度和序列。MultiF Seamless Assembly 已经被证明可以成功将 12 个 0.4 kb 的片段一次性插入载体中。一次反应请勿超过 5 个插入片段，以保证插入片段能正确组装并产生阳性克隆。若多个片段一次组装失败，建议分几步组装，降低单次反应的组装片段数量。

### 3. 能够使用的最短同源序列长度是多长？

当使用 12 bp 同源序列时，能够得到高效的组装结果，但是这依赖于同源序列的 GC 含量。推荐使用 15 bp 或更长的同源序列，同源序列的 Tm >48°C （AT pair = 2°C and GC pair = 4°C）。

### 4. 能够使用的最长同源序列长度是多长？

MultiF Seamless Assembly Mix 中的外切酶活性是针对≤100 bp 的同源序列长度进行优化的。

### 5. 能够组装≤200 bp的dsDNA片段吗？

可以。当片段大小≤200 bp 时，为了组装效果更佳，推荐插入片段的使用量为载体的五倍以上。

### 6. 可以使用更长或更短的反应时间吗？

可以。当组装单个片段时，15 min 的反应时间已经足够。当组装 2-5 个片段时，推荐 30-60 min 的反应时间。通常情况下不推荐反应时间小于 15 min。在某些情况下，更长的反应时间可适当地提高组装效率，但是不能超过 4 hr。切勿使用 MultiF Seamless Assembly 进行过夜反应。

### 7. 反应可以在其他温度下进行吗？

在 50°C 反应时最佳，但是在 40-50°C 也能工作。

### 8. 可以使用由重复His-tag编码组成的15 nt的同源序列（例如CACCACCACCACCAC）吗？

不可以，在 His-tag 重复密码子后，必须加上与 His-tag 重复密码子不同的至少 3 个碱基，并且在同源序列末端要避免重复序列。

### 9. 组装单个片段和组装2-5个片段有什么区别吗？

两者最主要的区别在于两个相邻片段间的同源序列的长度和组装反应的孵育时间。单个片段组装时，推荐用 15 min 的反应时间；而 2-5 个片段的组装，推荐用 60 min 的反应时间。另外，2-5 个片段所需的 DNA 总量也要高于单个片段。

### 10. 可以用MultiF Seamless Assembly的产物来做模板，做后续的PCR吗？

可以。组装好的产物是完整的序列，可以用做后续的 PCR 扩增。若最终的产物是个闭合的环形 DNA 分子，那么 MultiF Seamless Assembly 产物也可以作为 Rolling-Circle Amplification (RCA)的模板。

### 11. 单链DNA寡核苷酸片段可以组合在一起，然后与双链DNA片段进行组装吗？

可以。但是要优化好每条寡核苷酸加入的量。推荐每条寡核苷酸起始使用浓度为 45 nM。

### 12. 不连续突变位点的最短间隔是多长？

不连续突变位点之间至少相隔 100 bp 以上，距离如果较近的不连续位点突变可视为一个突变位点进行设计和构建。


E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126
For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.