



## 教学用PCR试剂盒 (877bp)

目录号: ZT401

产品储存: -20°C, 至少稳定12个月

编号	品名	规格
ZT401-1	教学用PCR试剂盒	50T
ZT401-2	教学用PCR试剂盒	100T

### 产品简介: (本试剂盒引物扩增877bp片段。)

耐热聚合酶PCR技术为综合了两项技术的实用性极强的DNA体外复制技术:

1、DNA模板与引物间的热变性与复性技术;实现在成千上万的DNA序列中寻找锁定目标片段位置。

2、耐热DNA聚合酶技术;实现耐受高温并对锁定位置的DNA的快速准确的聚合。

为了满足教学和科研的要求,本公司为您提供了可以扩增特定大小产物的PCR反应试剂盒。包括500bp~1000bp大小的PCR产物。本试剂盒含有完成PCR反应的全部试剂。提供清晰准确的PCR扩增效果,确保实验顺利进行。

该反应体系中Taq DNA聚合酶的最佳延伸温度为70~75°C。Taq酶的延伸速度为1~2 kb/min。

### 产品特点:

1. 简单方便:无需客户自己设计模板和引物,本产品提供的模板和引物简单易扩。
2. 稳定性:提供清晰的PCR扩增效果,确保实验顺利进行。

### 产品组成:

试剂盒中带有PCR扩增全套试剂,并提供扩增特定大小片段的引物和模板,没有特殊要求,试剂盒中提供扩增877bp片段的引物,GFP质粒DNA模板,6×loadingbuffer等。

组分	50次	100次	GFP质粒源于pCAMBIA1300,其序列可以通过百度搜索到或向我公司索取。
模板Template(GFP质粒DNA)	50μl	100μl	
上游引物(10μM)	50μl	100μl	
下游引物(10μM)	50μl	100μl	
10× Taq Buffer	300μl	500μl	
dNTP Mixture(10mM each)	50μl	100μl	
Taq DNA聚合酶(2.5U/μl)	50μl	100μl	
6×Loading Buffer	1ml	1ml	
ddH <sub>2</sub> O	3ml	5ml	



## 产品使用:

### 1. 反应体系的建立: 50 $\mu$ l反应体系如下

项目	加入量	备注
模板Template(GFP基因组DNA)	1 $\mu$ l	质粒小提试剂盒提取质粒DNA并电泳检查合格。
上游引物 (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	于NCBI网或其它渠道查阅GFP质粒序列,使用引物设计软件设计合适引物。
下游引物(10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	
10 $\times$ Taq Buffer	5 $\mu$ l	
dNTP Mixture(10mM each)	1 $\mu$ l	
Taq DNA聚合酶 (2.5U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l	
ddH <sub>2</sub> O	40 $\mu$ l	

### 2. PCR反应循环的设置:

预变性 94 $^{\circ}$ C 3 min



变性 94 $^{\circ}$ C 10sec  
退火 55 $^{\circ}$ C 10sec  
延伸 72 $^{\circ}$ C 30sec

} 30cycles



最后延伸 72 $^{\circ}$ C 5 min

说明:

a. 退火温度通常为两个引物中Tm值最小者减5 $^{\circ}$ C。实际依照电泳结果调整,杂带多,则提高退火温度。

b. 72 $^{\circ}$ C时 taq酶的扩增速度是1kb/min 所以877bp的目的片段应该设置延伸40秒,但有很多PCR仪器升降温速度不是很快,而Taq酶在50-80 $^{\circ}$ C都有很好延伸速度。所以,对于简单的模板1kb的目的片段 20-30s的延伸依然很好。

c. 对于循环次数,通常设置在25-35个循环,主要看模板多少或组织中拷贝多少,循环少了,扩增量少,而电泳无条带;多了没必要,且杂带容易扩增出来。

d. 最后延伸(在最后一个循环后,在72 $^{\circ}$ C维持5-15分钟)的作用是使合成中延伸不完全的延伸完全,并使单链产物退火成双链;所以合成的产物越长需要的时间越长。

3. 结果检测:反应结束后取2 $\mu$ l-5 $\mu$ l反应产物,琼脂糖凝胶电泳检测是否有扩增出目的片段(设计引物确定的877bp片段)。