



教学用PCR试剂盒

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(800bp)	50T
ZT401-2	教学用PCR试剂盒(800bp)	100T

产品简介:

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TaqDNA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800bp片段的引物, Lamda DNA 模板, 6×loading buffer等。

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

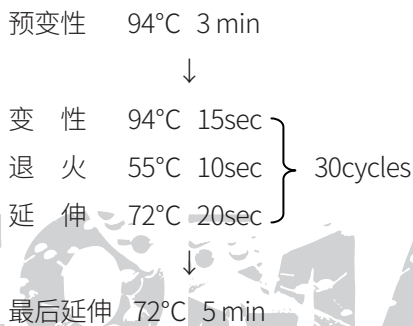


产品使用:

1. 反应体系的建立: 50 μ l反应体系如下

项目	加入量	备注
模板Template (10ng/ μ l Lamda DNA)	1 μ l	购买市售的提取纯化的Lamada噬菌体的DNA。
上游引物 (10 μ M)	1 μ l	于NCBI网或其它渠道查阅Lamda DNA序列, 使用引物设计软件设计合适引物。
下游引物(10 μ M)	1 μ l	
10 \times Taq Buffer	5 μ l	
dNTP Mixture(10mM each)	1 μ l	
Taq DNA聚合酶 (2.5U/ μ l)	1 μ l	
ddH ₂ O	40 μ l	

2. PCR反应循环的设置:



说明:

- 退火温度通常为两个引物中T_m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。
- 72 $^{\circ}$ C时 taq酶的扩增速度是1kb/min 所以800bp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 20s的延伸依然很好。
- 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。
- 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. 反应结束后取5 μ l-10 μ 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800bp片段)。