



# 教学用 PCR 试剂盒

Cat.NO. ZT401

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

储存条件: -20°C, 至少稳定 12 个月

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

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

备注: 本试剂盒使用的模版为 Lamda DNA 的部分基因, 非完整基因; 仅供搭配该试剂盒使用, 如用于其他实验, 请咨询公司。



## 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 (10ng/ $\mu$ l Lamda DNA)	1 $\mu$ l	购买市售的提取纯化的Lamada 噬菌体的DNA。
上游引物 (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ 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 $\mu$ 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 15sec  
退火 55 $^{\circ}$ C 15sec  
延伸 72 $^{\circ}$ C 20sec } 30cycles

↓  
最后延伸 72 $^{\circ}$ C 5 min

### 说明:

- 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。
  - 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. 结果检测 : 反应结束后取 5 $\mu$ l-10 $\mu$ 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 800bp 片段)。