

引物条件调试报告小结

A 样本

样本描述: 客户提供 cDNA 样本, 调试基因共 4 个。

B. 引物合成及调试 (原始图片见附件)

说明: 1. PCR 扩增采用 PCR Mix.

PCR 体系:

2X 热启动 PCR 核心试剂混合物

反应液配制:

反应体系: (总体积 30ul)

PCR Mixture 2X Mix 15ul

引物 F 0.5ul (10uM)

引物 R 0.5ul (10uM)

模板 1- 5ul

余下体积用水补足到 30ul

PCR 反应条件: (标准程序, 各优化程序在此基础上进行调整)

预变性: 95°C 3min

循环体: 95°C 30s 55/60/65°C 30s 72°C 30s 35-40 个循环

72°C: 15min

2. 电泳条带大小由下到上依次为 100bp、200bp、300bp、400bp、500bp、600bp、700bp、800bp、900bp、1kb, 其中最亮的条带为 500bp, N 为 PCR 的阴性对照, M 为 100bp marker

1. 引物序列

	引物	序列	产物大小
11	P5	TCGGGACTTCATTGATTGTTCTT	233bp
	P3	AGGGGCTCCGTTTCTGC	
2	P5	TGAAGCCCAGATCCCAAGGTGTGA	175bp
	P3	TGCCCAGCCTGGGCAGTGAAG	
3	P5	GGGAATGGGAAACAGGGTAATG	240bp
	P3	TGGATCCAGGGGTGCTCA	
4	P5	TTTTTGATCCGTTGTTCTTGT	138bp
	P3	GACGGGTTTCCTTTATTCTGT	

2. 电泳分析

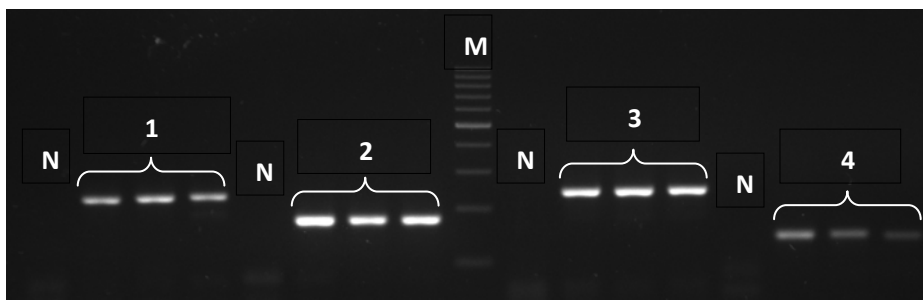


图: N, 1-55°C, 60°C, 65°C, N, 2-55°C, 60°C, 65°C, M, N, 3-55°C, 60°C, 65°C, N, 4-55°C, 60°C, 65°C

最适 PCR 反应温°C:

1. 基因 1 退火温度建议选 60°C
2. 基因 2 退火温度建议选 55°C
3. 基因 3 退火温度建议选 55°C
4. 基因 4 退火温度建议选 55°C

C 引物处理

每条引物共合成 20D, 10D 每管, 在以上优化调试时将每条引物的其中 10D 加入 ddH₂O 溶解成 10uM 浓°C 使用, 另 10D 的引物尚未溶解。