

## 产品介绍:

产品名称: 沃尔巴克氏菌通用 PCR 检测试剂盒

英文名称: Wolbachia spp. PCR

## 准备物品:

|           |     |
|-----------|-----|
| 清理液 (A)   | 毫升  |
| 染色液 (t B) | 微升  |
| 稀释液 (C)   | 毫升  |
| 溶解液 (tD)  | 毫升  |
| 产品说明书     | 1 份 |



## 注意事项:

1. 基础程序;
2. 扩增温度和延伸温度;
3. 反应时间;
4. 循环次数;
5. PCR 反应液的配制;
6. PCR 技术的基本原理;
7. PCR 的反应动力学;

8. PCR 扩增产物；

9. PCR 反应体系与反应条件。

## 反应五要素：

参加 PCR 反应的物质主要有五种即引物、酶、dNTP、模板和  $Mg^{2+}$

引物：引物是 PCR 特异性反应的关键，PCR 产物的特异性取决于引物与模板 DNA 互补的程度。理论上，只要知道任何一段模板 DNA 序列，就能按其设计互补的寡核苷酸链做引物，利用 PCR 就可将模板 DNA 在体外大量扩增。设计引物应遵循以下原则：

①引物长度： 15-30bp，常用为 20bp 左右。

②引物扩增跨度： 以 200-500bp 为宜，特定条件下可扩增长至 10kb 的片段。

③引物碱基：G+C 含量以 40-60%为宜，G+C 太少扩增效果不佳，G+C 过多易出现非特异条带。ATGC\*随机分布，避免 5 个以上的嘌呤或嘧啶核苷酸的成串排列。

④避免引物内部出现二级结构，避免两条引物间互补，特别是 3' 端的互补，否则会形成引物二聚体，产生非特异的扩增条带。

⑤引物 3' 端的碱基，特别是最末及倒数第二个碱基，应严格要求配对，以避免因末端碱基不配对而导致 PCR 失败。

⑥引物中有或能加上合适的酶切位点，被扩增的靶序列\*有适宜的酶切位点，这对酶切分析或分子克隆很有好处。

⑦引物的特异性：引物应与核酸序列数据库的其它序列无明显同源性。

引物量：每条引物的浓度 0.1~1 $\mu$ mol 或 10~100pmol，以\*引物量产生所需要的结果为好，引物浓度偏高会引起错配和非特异性扩增，且可增加引物之间形成二聚体的机会。