



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## Annealing Buffer for DNA Oligos(5X)

产品编号	产品名称	包装
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos(5X)	1ml

### 产品简介:

- 碧云天生产的Annealing Buffer for DNA Oligos (5X), 即DNA寡核苷酸退火缓冲液, 是一种经过我们多次实验证实、可以用于DNA oligo退火的缓冲液。该退火缓冲液不仅可以用于常规的DNA oligo的退火, 而且特别适合于较难退火的用于RNAi (也称siRNA)质粒构建的DNA oligo的退火。用于RNAi质粒构建的DNA oligo通常由于含有约20个左右的互补序列, 极易自身形成发夹结构, 从而影响两条DNA oligo的正确退火。使用碧云天生产的Annealing Buffer for DNA Oligos (5X), 可以有效避免DNA oligo自身形成发夹结构, 并且两条oligo退火后可以直接和经酶切、纯化的质粒连接。通常转化后可以得到大量的阳性克隆。
- 使用本试剂盒操作非常简单, 只需把待退火的DNA oligo和Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)按照一定比例混合后, 置于PCR仪上, 约90分钟即可完成。
- 如果一次退火反应体积为100微升, 一个包装的退火缓冲液可以进行50次退火反应。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 一年有效。

### 注意事项:

- Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) 只适合于DNA oligo的退火, 不能用于RNA oligo 的退火。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

- 把待退火的DNA oligo用经灭菌的Milli-Q水或重蒸水配制成50 $\mu$ M。溶解Annealing Buffer for DNA Oligos (5X), 混匀备用。
- 如下设置退火反应体系:

Nuclease-Free Water	40 $\mu$ l
Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	20 $\mu$ l
DNA oligo A (50 $\mu$ M)	20 $\mu$ l
DNA oligo B (50 $\mu$ M)	20 $\mu$ l
总体积	100 $\mu$ l

按照上述顺序依次加入各种试剂, 混匀。如果所用的PCR仪没有热盖, 滴加矿物油(mineral oil)以防止蒸发。

- 如下设置PCR仪进行退火反应:

步骤	温度	时间	说明
1	95°C	2分钟	让oligo充分变性
2	每8秒下降0.1°C, 降至25°C	约90分钟	退火
3	4°C	长时间保持	暂时存放

注1: 每8秒下降0.1°C, 降至25°C的程序设置, 以Bio-Rad的T100为例为: 1. 95°C, 2:00; 2. 95°, 0.08, -0.1°C per cycle; 3. GOTO step 2, 700X; 4. 4°C,  $\infty$ 。

注2: 如果所用的PCR仪不具备下降0.1°C的功能, 也可以设置为每90秒下降1°C。程序设置以Bio-Rad的T100为例为: 1. 95°C, 2:00; 2. 95°C, 1:30, -1°C per cycle; 3. GOTO step 2, 70X; 4. 4°C,  $\infty$ 。

注3: 如果条件有限, 也可以将水浴锅加热至95°C, 把PCR管放在水浴锅中, 或者把煮沸的热水加入到保温杯或保温瓶中, 待水温降到95°C时放入PCR管。所用水量控制在1-2小时内自然降温至25°C左右。此方法的退火效果可能会比使用PCR仪略差一些。

- 退火结束后可以直接用于连接反应, 也可以-20°C冻存储备用。如果退火结束后打算进行酶切等其它反应, 最好用纯化试剂盒

进行纯化，或者确保退火产物在反应体系中体积不超过5%，以避免Annealing Buffer对后续的酶反应体系的干扰。

### 使用本产品的文献：

1. Qu B, Han X, Tang Y, Shen N. A Novel Vector-Based Method for Exclusive Overexpression of Star-Form MicroRNAs. *PLoS One*. 2012;7(7):e41504.
2. Jiang W, Liang P, Wang B, Fang J, Lang J, Tian G, Jiang J, Zhu TF. Optimized DNA extraction and metagenomic sequencing of airborne microbial communities. *Nat Protoc*. 2015 May;10(5):768-79.
3. Huang G, Gao Q, Zhao Y, Dong Z, Li T, Guan X, Jiang J. A novel siRNA validation system for functional screening of effective RNAi targets in mammalian cells and development of a derivative lentivirus delivery system. *Gene*. 2015 Mar 10;558(2):278-86.
4. Yuanyou Li, Ziyang Yin, Yewei Dong, Shuqi Wang, Óscar Monroig, Douglas R Tocher, Cuihong You. Ppar  $\gamma$  Is Involved in the Transcriptional Regulation of Liver LC-PUFA Biosynthesis by Targeting the  $\Delta 6 \Delta 5$  Fatty Acyl Desaturase Gene in the Marine Teleost *Siganus Canaliculatus* *MAR BIOTECHNOL*. 2019 Feb;21(1):19-29.;doi: 10.1007/s10126-018-9854-0
5. Tian M, Qu J, Li P, Bao Y, Liu J, Ding C, Wang S, Li T, Qi J, Yu S. Identification of novel genes essential for *Brucella abortus* to establish infection by signature-tagged mutagenesis. *Vet Microbiol*. 2019 Mar;230:130-137
6. Fang H, Dong Y, Yue X, Hu J, Jiang S, Xu H, Wang Y, Su M, Zhang J, Zhang Z, Wang N, Chen X. The B-box zinc finger protein MdBBX20 integrates anthocyanin accumulation in response to ultraviolet radiation and low temperature. *Plant Cell Environ*. 2019 Jul;42(7):2090-2104
7. Chen H, Wang J, Cui J, Wang C, Liang S, Liu H, Wen J. Negative regulation of bleomycins biosynthesis by ArsR/SmtB family repressor BlmR in *Streptomyces verticillus*. *APPL MICROBIOL BIOT*. 2019 Aug;103(16):6629-6644
8. Chang Y, Deng Y, Li T, Wang J, Wang T, Tan F, Li X, Tian K. Visual detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using CRISPR-Cas13a. *Transbound Emerg Dis*. 2020 Mar;67(2):564-571
9. Yaokang Wu, Yanfeng Liu, Xueqin Lv, Jianghua Li, Guocheng Du, Long Liu. CAMERS-B: CRISPR/Cpf1 assisted multiple-genes editing and regulation system for *Bacillus subtilis* *Biotechnol Bioeng*. 2020 Jun;117(6):1817-1825.;doi: 10.1002/bit.27322

Version 2021.09.01