

## 第二章 PCR 相关与杂交标记检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格	产地	价格
<b>一、普通/高保真 PCR 类</b>				
MTO-1001	Taq DNA Polymerase(含镁离子)	500U	MyLab	65
MTO-1002	Taq DNA Polymerase(不含镁离子)	500U	MyLab	65
MTO-1003	Pfu DNA Polymerase(5U/ $\mu$ l)	200U	MyLab	160
MTO-1004	2 $\times$ Pfu PCR Mix	1ml	Mylab	150
MTO-1005	HotStart Taq DNA polymerase	200U,5U/ $\mu$ l	Mylab	240
MTO-1006	HotStart Taq DNA polymerase	1000U,5U/ $\mu$ l	Mylab	1000
MTO-1007	2 $\times$ Hotstart Taq PCR Mix	0.5 ml	Mylab	120
MTO-1008	dNTP	500 $\mu$ l	MyLab	60
MTO-1009	2 $\times$ PCRTaqMix 有染料	1ml	MyLab	95
MTO-1010	2 $\times$ PCRTaqMix 无染料	1ml	MyLab	95
<b>二、RT-PCR 类</b>				
MTT-1001	通用型 RT-PCR 扩增试剂盒	20T	MyLab	540
MTT-1002	通用型 RT-PCR 扩增试剂盒	50T	MyLab	1080
MTT-1003	M-MuLV Reverse Transcriptase(20U/ $\mu$ l)	10000U	MBI	490
MTT-1004	M-MuLV Reverse Transcriptase(20U/ $\mu$ l)	5 $\times$ 10000U	MBI	1960
MTT-1005	Ribonuclease Inhibitor(40U/ $\mu$ l)	2500U	MBI	450
MTT-1006	Ribonuclease Inhibitor(40U/ $\mu$ l)	4 $\times$ 2500U	MBI	1600
MTT-1007	Oligo(dT)18(0.25ug/ $\mu$ l)	100 $\mu$ l	MyLab	60
MTT-1008	Oligo(dT)18(0.25ug/ $\mu$ l)	500 $\mu$ l	MyLab	200
MTT-1009	DNase I (RNase free)(1U/ $\mu$ l)	1000U	MBI	410
<b>三、荧光定量 PCR 类</b>				
MTQ-1001	2 $\times$ qPCR SmartMix(通用)	80T(25 $\mu$ l 体系)	MyLab	360
MTQ-1002	2 $\times$ qPCR SmartMix(适用 ABI)	80T(25 $\mu$ l 体系)	MyLab	360
MTQ-1003	20 $\times$ EvaGreen	500 $\mu$ l	biotium	225
MTQ-1004	20 $\times$ EvaGreen	5 $\times$ 500 $\mu$ l	biotium	998
MTQ-1005	20 $\times$ EvaGreen	1ml	biotium	425
MTQ-1006	20 $\times$ EvaGreen	5 $\times$ 1ml	biotium	1950
MTQ-1007	20 $\times$ SmartGreen	500 $\mu$ l	MyLab	310
<b>四、MyLab™ 地高辛标记与杂交检测试剂盒</b>				
DDLK-010	DIG DNA PCR 标记试剂盒	10T	MyLab	1680
RDLK-010	随机引物法 DIG 标记试剂盒	10T	MyLab	1680
DIGD-110	地高辛杂交检测试剂盒 I(NBT/BCIP 法)	10T	MyLab	1180
DIGD-210	地高辛杂交检测试剂盒 II (CDP-Star 法)	10T	MyLab	1380
TDLK-010	末端加尾法 DIG 标记试剂盒	10T	MyLab	2880
RNLK-010	DIG RNA 标记试剂盒(T7/SP6)	10T	MyLab	2880
Hyb-50	Hyb 高效杂交液	50ml	MyLab	180
Hyb-100	Hyb 高效杂交液	100ml	MyLab	280
Hyb-500	Hyb 高效杂交液	500ml	MyLab	1180
<b>五、U-LAMP/RT-LAMP 类</b>				
LAD-50	U-LAMP 通用扩增试剂盒	50T	MyLab	880
LAR-50	RT-LAMP 通用型 RNA 快速扩增试剂盒	50T	MyLab	1680
<b>六、DNA/RNA Maker 类</b>				
MK-01	100bp Ladder	0.3ml/管, 50 次	MyLab	120
MK-02	DL2000	0.3ml/管, 50 次	MyLab	56
MK-03	DNA Marker 1	0.3ml/管, 50 次	MyLab	100
MK-04	DNA Marker 11	0.3ml/管, 50 次	MyLab	100
SM1831	RNA Marker100-1000b	5 $\times$ 20 $\mu$ l, 50 次	MBI	1100
SM1833	RNA Marker 100-1000b ready-to-use	5 $\times$ 40 $\mu$ l, 50 次	MBI	1280



SM1821	RNA Marker 200-6000b		MBI	100
SM1823	RNA Marker 200-6000b ready-to-use		MBI	100
<b>七、生化试剂类</b>				
A0818	剥离硅烷 Repel-Silane	50ml	Applichem	150
A3797	亲合硅烷 Binding Silane	25ml	Applichem	150
A2168	Glycogen(20mg/ml)	200 $\mu$ l	MyLab	180
A2168	Glycogen(20mg/ml)	500 $\mu$ l	MyLab	299
SH-01	Mylab® 2×SmartHyb	1ml; 100T	MyLab	100
SH-02	Mylab® 2×SmartHyb	5ml; 500T	MyLab	425
SH-03	Mylab® 2×SmartHyb	10ml; 1000T	MyLab	700

### 一、普通/高保真 PCR 类

#### (一) Taq 酶

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTO-1001	Taq DNA Polymerase (含镁离子)	500U	-20℃	MyLab	65
MTO-1002	Taq DNA Polymerase (不含镁离子)	500U	-20℃	MyLab	65

#### 1、【组成】

<b>Taq DNA Polymerase: 500U (5U/<math>\mu</math>l; 100<math>\mu</math>l)</b>	
MTO-1001: Buffer 中含镁离子:	MTO-1002: Buffer 中不含镁离子:
10× PCR Buffer: 1.5ml, 组份为: 100 mM Tris-HCl (pH8.7) 500 mM KCl 15 mM MgCl <sub>2</sub> 0.1%白明胶 其它稳定剂和增强剂	25 mM MgCl <sub>2</sub> : 1ml 10× PCR Buffer: 1.5ml, 组份为: 100 mM Tris-HCl (pH8.7) 500 mM KCl 0.1%白明胶 其它稳定剂和增强剂

#### 2、【特点】

本制品是分子量为 94 kDa 的耐热的 DNA 聚合酶。是将栖热水生菌 (*Thermus aquaticus*) DNA Polymerase 的基因克隆后, 在大肠杆菌中表达后, 分离纯化而得到的。它与天然的 Taq DNA 聚合酶有相同的功能。该酶反应需 Mg<sup>2+</sup> 参与, 它以双链 DNA 为模板催化核苷酸从 5' 向 3' 末端形成双链 DNA。该酶不具有 5'-3' 核酸外切酶的活性。该产品主要用于 DNA 的 PCR 扩增, DNA 测序等。PCR 产物 3' 端为 A, 可用于 T/A 克隆。在 70~75℃ 时, DNA 聚合的速度每秒大于 75 个碱基。

#### 3、【适用范围】

常规 PCR/反转录 PCR/荧光定量 PCR/DNA 测序/平端 PCR 产物加 A 等。

#### 4、【使用方法】

注意: 以下举例多数情况下可参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据实际情况, 设定最佳反应条件。

以人基因组 DNA 为模板, 扩增 1kb 的片段, 反应体系为 25 $\mu$ l。

组份	加量 ( $\mu$ l)
10×PCR Buffer	2.5 $\mu$ l
Primer 1 (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Primer 2 (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
dNTP (10mM)	0.5 $\mu$ l
Taq DNA Polymerase	1~2.5U
Template	<1 $\mu$ g
ddH <sub>2</sub> O	补至 25 $\mu$ l

如反应体系不同, 可按此比例增加或减少用量。混匀后, 置于 PCR 仪中, 按设定的程序运行即可。反应结束后取 5 $\mu$ l 反应产物, 琼脂糖凝胶电泳检测。



## (二) Pfu 酶

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTO-1003	Pfu DNA Polymerase (5U/ $\mu$ l)	200U	-20 $^{\circ}$ C	MyLab	160

### 1、【特点】

本产品是分子量为 90 kDa 的高保真 DNA 聚合酶。是从克隆有 *Pyrococcus fureosus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌中分离出来的。它有 3'-5' 的外切酶活性，它能纠正 DNA 扩增过程中产生的错误，是目前已发现的所有耐高温 DNA Polymerase 中出错率最低的。本产品经过多次过柱纯化，为超纯型，纯度达 99% 以上。经检测无外源核酸酶活性，PCR 方法检测无宿主残余 DNA。本品有 3'-5' 外切核酸酶活性，无 5'-3' 外切酶活性。最佳温度 70-75 $^{\circ}$ C，PCR 产物为平端。

### 2、【注意事项】

- 1) 本产品保存于 50mM Tris-HCl (pH8.2)、0.1mM EDTA、1mM DTT、0.1% Tween 20、0.1% Nonidet P-40、50% Glycerol，储存温度为 -20 $^{\circ}$ C 或以下。
- 2) Pfu 扩增效率通常比 Taq 酶差，这是由于 Pfu 具有 3'-5' 的外切酶活性所引起的。在用 Pfu 扩增时由于其延伸速度远比 Taq 酶低，因而在设置 PCR 反应时，应根据扩增产物的长度设置相应的延长时间。
- 3) 用 Pfu 扩增时，引物的纯度要求较高， $T_m$  有 55- 80 $^{\circ}$ C 之间。引物的浓度在 0.1-0.5 $\mu$ M 之间，比 Taq 酶略高。Pfu 的 3'-5' 外切酶活性可能会降解引物，特别时溶液中没有 dNTP 的情况下，所以 Pfu 应最后加入到反应体系中，并立即进行 PCR 反应。
- 4) Pfu 的热稳定性比 Taq 酶高，对于 GC 含量很高的模板，变性温度可以提高到 98 $^{\circ}$ C，而不影响 Pfu 的活性。
- 5) PCR 产物为平端，不能直接用 T/A 载体克隆，可使用平末端克隆载体。

### 3、【使用方法】

注意：以下举例多数情况下可参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况，设定最佳反应条件。

以人基因组 DNA 为模板，扩增 1kb 的片段，反应体系为 50 $\mu$ l。

按下列组份配制 PCR 反应液。

组份	加量 ( $\mu$ l)
10 $\times$ PCR Buffer	5 $\mu$ l
dNTP Mixture(各 10mM)	1 $\mu$ l
Primer 1(10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Primer 2(10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Template	< 1 $\mu$ g
Pfu DNA Polymerase(5U/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ l

如反应体系不同，可按此比例增加或减少用量。混匀后，置于 PCR 仪中，按设定的程序运行即可。反应结束后取 5 $\mu$ l 反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

## (三) 2 $\times$ Pfu PCR Mix

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格
MTO-1004	2 $\times$ Pfu PCR Mix	1ml	-20 $^{\circ}$ C	MyLab	150

### 1、【特点】

本产品包含 Pfu DNA 聚合酶、dNTPs 和优化的反应缓冲液，浓度为 2 $\times$ ，具有高保真性。DNA 扩增时，只需加入模板、引物和水，使 Mix 溶液的浓度为 1 $\times$  即可进行反应。进行 PCR 扩增时可以减少 PCR 扩增操作时间，避免因多步操作带来的污染。特别适宜高通量筛选基因的扩增。保真性是 *EasyTaq* DNA Polymerase 的 18 倍。具有 5'-3' DNA 聚合酶活性和 3'-5' 外切酶活性。PCR 产物为平端。扩增效率较之一般的 Mixture 更高。应用 Mix 扩增时，由于应用独特的缓冲液，不但提高了 DNA 聚合速度（当扩增片段 < 4 kb 时，扩增效率 > 1 kb/min），而且增加了片段的扩增长度（当扩增片段 > 4 kb 时，扩增效率 > 1 kb/2min）。

### 2、【保存条件】



-20℃一年有效，多次冻融不会影响活性，经常使用可放置于4℃。

### 3、【使用方法】

PCR 法扩增 DNA。

PCR 反应体系可以如下操作：

组份	20 μl 体系	25 μl 体系	50 μl 体系	终浓度
2×Pfu PCR Mix	10 μl	12.5 μl	25 μl	1×
上游 Primer (10 μM)	0.5 -1 μl	0.5-1 μl	1-2 μl	200-400 nm
下游 Primer (10 μM)	0.5 -1 μl	0.5-1 μl	1-2 μl	200-400 nm
模板	质粒 5-20 ng, 基因组 100 ng			pg-ng
Total	至 20 μl	至 25 μl	至 50 μl	

PCR 反应条件：

循环数	Step	温度	时间	说明
1	1	95℃	2-5 min	起始模板变性
	1	95℃	30 sec	模板变性
30-35	2	自定	30 sec	退火
	3	72℃	1 min/1-2 kb	延伸
1	1	72℃	10 min	延伸

### 4、【注意事项】

请在加样前上下颠倒混匀，如需多次实验请分装，避免多次反复冻融。

#### (四) HotStart Taq DNA Polymerase

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格
MTO-1005	HotStart Taq DNA polymerase	200U,5U/μl	-20℃	Mylab	240
MTO-1006	HotStart Taq DNA polymerase	1000U,5U/μl	-20℃	Mylab	1000

#### 1、【特点】

HotStart Taq DNA polymerase经过化学修饰，酶活性被封闭，在94—95℃加热数分钟才能回复正常活力开始反应，因此在初始循环的热变性之前它没有活性，不会产生非特异性扩增，一般用于有较强背景的基因组扩增。

活性单位：1单位酶活力定义为在72℃、30分钟内，将10nmol同位素标记的dNTP掺入到酸不溶物质所需的酶量。

质量控制：本产品经过多次过柱纯化，为超纯型，纯度大于99%。经检测无外源核酸酶活性，PCR方法检测无宿主残余DNA。

#### 2、【保存条件】

-20℃ 可保存一年以上。

#### 3、【适用范围】

一般用于高灵敏度和有较强背景的基因组扩增(如基因组中某个特定基因位点或外源病原体的检测)、Multiplex PCR、TA 克隆等。

#### 4、【使用方法】

以基因组DNA为模板，扩增1000bp的片段。

组份	加量
Template	< 1g
Primer 1 (10 M)	1-3 l
Primer 2 (10 M)	1-3 l
10×Reaction Buffer	5 l
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 l
HotStart Taq (5 U /μl)	0.5—1 μl
无菌去离子水	补足至 50 μl



反应条件

循环数	温度	时间	说明
1	95℃	5min	起始模板变性
30-35	95℃	30 sec	模板变性
	自定	30 sec	退火
	72℃	1 min/1-2 kb	延伸
1	72℃	10 min	延伸

PCR反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在实际操作中需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况，设定最佳的反应条件（温度、时间等）。

### （五）2×Hotstart Taq PCR Mix

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格
MTO-1007	2×Hotstart Taq PCR Mix	0.5 ml	-20℃	Mylab	180

#### 1、【特点】

本制品是 PCR 反应用的 HotstartTaq DNA Polymerase、Buffer、dNTP Mixture 的 2 倍浓度的混合物。使用时，只需在制品溶液中加入模板和引物便可进行 PCR 反应，大大地简化了操作过程，减少了 PCR 操作过程中的污染。具有比一般 2×Taq PCR MasterMix 扩增更快速、更高灵敏度、特异性强、更高扩增效率的优点。在 PCR 反应中，Taq DNA polymerase 延伸速度为 1-2 kb/分钟，产物 3' 端带“A”碱基，可直接克隆于 TA 载体中。

用途：PCR 法扩增 DNA。

活性单位:1 单位酶活力定义为在 72℃、30 min 内，将 10 nmol 同位素标记的 dNTP 掺入到酸不溶物质所需的酶量。

质量控制：本产品经过多次过柱纯化，为超纯型，纯度大于 99%。经检测无外源核酸酶活性，PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

主要技术参数：需在 94—95℃加热数分钟才能恢复活力。有 5'-3'外切核酸酶活性，无 3'-5'外切酶活性。PCR 产物 3'端为 A，可直接用 TA 载体克隆。

#### 2、【保存条件】

-20℃一年有效，多次冻融不会影响活性，经常使用可放置于 4℃。

#### 3、【使用方法】

建议的 PCR 条件（以 50 μl 反应体系为例）：

组份	50 μl 体系	终浓度
2×Hotstart Taq PCR Mix	25 μl	1×
上游 Primer (10 μM)	2-5 μl	400-800 nM
下游 Primer (10 μM)	2-5 μl	400-800 nM
模板		pg-ng
total	至 50 μl	

PCR 反应条件：

循环数	温度	时间	说明
1	95℃	5-10 min	起始模板变性
30-35	95℃	30 sec	模板变性
	自定	30 sec	退火
	72℃	1 min/1-2 kb	延伸
1	72℃	10 min	延伸



## (六) dNTP

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTO-1008	dNTP	500μl	-20℃	MyLab	60

## 1、【组成】

dATP/dTTP/dCTP/dGTP 均为 10 mM

## 2、【适用范围】

常规 PCR/反转录 PCR/荧光定量 PCR/DNA 测序等。

## (七) 2×PCR Taq Mix

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTO-1009	2×PCRTaqMix 有染料	1ml	-20℃	MyLab	95
MTO-1010	2×PCRTaqMix 无染料	1ml	-20℃	MyLab	95

## 1、【组成】

组份	加量
Smart DNA Polymerase/μl	0.2U
dNTP each	400μM
Tris-HCl (pH8.7)	20 mM
KCl	100 mM
MgCl <sub>2</sub>	3 mM
其它稳定剂和增强剂	

## 2、【特点】

本产品包含 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、增强剂、优化剂和稳定剂，浓度为 2×，可用于 PCR 扩增和 Real-Time PCR(MTO-1005)。具有使用方便、价格合理、稳定性好、特异性强(错配率为 10<sup>-6</sup>~10<sup>-7</sup>)和扩增高效等特点。优质的 DNA 聚合酶和先进的配方，保证高扩增效率的同时，有效消除非特异性扩增，其特异性能明显优于散装 Taq 酶。可最大限度的减少人为误差和交叉污染，可用于高特异性、高保真 PCR 反应及复杂模板如 GC 含量高 (>60%)、有二级结构等的扩增和大规模基因检测。

## 3、【适用范围】

基因检测：本产品不同批次之间误差很小，特别适合大规模基因检测，半定量 PCR 实验和微量 DNA 的检测。

用于从复杂模板中如基因组等扩增高保真产物，如表达基因的克隆、基因的定点突变和分析 (SNP) 等。PCR 产物如需克隆，纯化后可直接进行 T/A 载体克隆。

## 4、【使用方法】

注意：以下举例多数情况下可参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况，设定最佳反应条件。

用 2×PCR TaqMix 产品，以人基因组 DNA 为模板，扩增 1kb 的片段，反应体系为：

组份	加量
2×PCR TaqMix	10μl
Primer 1 (10μM)	1μl
Primer 2 (10μM)	1μl
Template	<1μg
ddH <sub>2</sub> O	补至 20μl

如反应体系不同，可按此比例增加或减少用量。混匀后，置于 PCR 仪中，按设定的程序运行即可。反应结束后取 5μl 反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。



## 二、RT-PCR 类

## (一) 通用型 RT-PCR 扩增试剂盒

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTT-1001	通用型 RT-PCR 扩增试剂盒	20T	-20℃	MyLab	540
MTT-1002	通用型 RT-PCR 扩增试剂盒	50T	-20℃	MyLab	1080

## 1、【组成及保存条件】

编号	组份名称	浓度	体积 (μl)
1	M-MuLV Reverse Transcriptase	200U/μl	20/50
2	Ribonuclease Inhibitor	40U/μl	10/25
3	5xReaction Buffer	5x	80/200
4	dNTP	10mM	40/100
5	Oligo(dT)18 Primer	0.25μg/μl	40/100
6	Random Hexamer Primer	0.2μg/μl	20/50
7	2xPCR TaqMix	2x	1000
8	Control RNA	0.5μg/μl	10μl
9	PCR Control Primers*	10μM	10μl
10	DEPC-treated Water	/	1000

\*Control Primers: 为人 GAPDH cDNA 扩增上下游引物, 片断大小 522bp。

## 2、【用途与特点】

- 1) 本试剂盒可用于几乎所有材料来源 RNA 的第一链 cDNA 合成及 PCR 扩增。试剂盒中同时提供了 Oligo(dT)18 引物和随机六引物, 可根据需要选用, 也可以使用基因特异性引物进行反转录反应。
- 2) 本试剂盒提供的 M-MuLV 反转录酶具有依赖 RNA 的 DNA 聚合酶活性和 RNase H 活性, 反转录最长片断可达 6Kb 以上。本试剂盒提供的 RNase 抑制剂可以非竞争性抑制 RNase A、B 和 C 的活性, 保护 RNA。
- 3) 试剂盒中包括了除模板 RNA 和基因特异性引物之外的所有 RT 和 PCR 反应所需全部试剂。PCR 试剂以 2xPCR TaqMix 形式提供, 包含 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、增强剂、优化剂和稳定剂等, 并预混染料, 扩增结束后可直接电泳, 使用十分方便。所含 Taq DNA 聚合酶的扩增片断长度可达 5Kb, 产物可以直接进行 T/A 克隆。

## 3、【操作步骤】

## 1) cDNA 合成

① 在冰上 0.2ml 离心管内加入以下试剂:

组份	加量
total RNA	100ng ~ 5μg
or poly(A) <sup>+</sup> mRNA	10ng ~ 0.5μg
or specific RNA	0.01pg ~ 0.5μg
oligo(dT)18 primer (0.25ug/ul)	2μl (0.5μg)
or random hexamer primer(0.25ug/ul)	1μl (0.2μg)
or sequence-specific primer(10uM)	15~20pmol
DEPC-treated Water	to 11~12.5μl

如使用试剂盒中的 Control RNA, 请加入 5μl。  
轻柔混匀, 稍离心。70℃保温 5min, 立即冰浴。

② 向管中依次加入以下试剂:

组份	加量
5×Reaction Buffer	4μl
dNTP	2μl (1mM final concentration)
Ribonuclease Inhibitor	0.5μl (20U)
DEPC-treated Water	to 19μl



37℃保温 5min, (注意: 如果使用 random hexamer primer, 25℃保温 5min)

③ 向管中加入 M-MuLV Reverse Transcriptase 1 $\mu$ l。42℃保温 60min。(注意: 如果使用 random hexamer primer, 先 25℃保温 10min, 然后 42℃保温 60min)

④ 70℃保温 10min 终止反应, cDNA 立即用于下游 PCR 扩增或-20℃保存备用。

## 2) PCR 扩增

0.2ml 离心管内加入以下试剂:

组份	加量
2 $\times$ PCR TaqMix	10 $\mu$ l
Primer F (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Template cDNA	1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	补至 20 $\mu$ l

如使用试剂盒中的人 GAPDH cDNA 扩增引物混合物, 则共加 1 $\mu$ l, 退火温度为 60℃。如反应体系不同, 可按此比例增加或减少用量。混匀后, 置于 PCR 仪中, 按设定的程序运行即可。反应结束后取 5 $\mu$ l 反应产物, 琼脂糖凝胶电泳检测。

## (二) 反转录酶

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTT-1003	M-MuLV Reverse Transcriptase(20U/ul)	10000U	-20℃	MBI	490
MTT-1004	M-MuLV Reverse Transcriptase(20U/ul)	5 $\times$ 10000U	-20℃	MBI	1960

### 1、【组成】

反转录酶及其 5 $\times$ Reaction Buffer

### 2、【适用范围】

适于对总 RNA、mRNA 及特殊 RNA 进行反转录, 扩增 cDNA。

### 3、【使用方法】

参见-通用型 RT-PCR 扩增试剂盒

## (三) RNA 酶抑制剂

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTT-1005	Ribonuclease Inhibitor(40U/ul)	2500U	-20℃	MBI	450
MTT-1006	Ribonuclease Inhibitor(40U/ul)	4 $\times$ 2500U	-20℃	MBI	1600

### 1、【适用范围】

适于在反转录或对 RNA 中的 DNA 进行消化时对 RNA 的保护(抑制 RNase 活性)。

### 2、【使用方法】

参见-通用型 RT-PCR 扩增试剂盒和 DNase I(消化 RNA 中的 DNA 污染)

## (四) Oligo(dT)18

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTT-1007	Oligo(dT)18(0.25ug/ul)	100ul	-20℃	MyLab	60
MTT-1008	Oligo(dT)18(0.25ug/ul)	500ul	-20℃	MyLab	200

### 1、【特点】

在 Oligo(dT)18 的末端加了 N, 能特异性的结合在 PloyA 尾巴与基因序列的起始端, 使铆钉更加牢固、特异。

### 2、【适用范围】



适于对真核生物的总 RNA、mRNA 进行反转录，扩增 cDNA。

### 3、【使用方法】

参见-通用型 RT-PCR 扩增试剂盒

#### (五) DNase I (消化 RNA 中的 DNA 污染)

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTT-1009	DNase I (RNase free)(1U/ul)	1000U	-20℃	MBI	410

#### 1、【组成】

10× Reaction Buffer with MgCl<sub>2</sub>  
25 mM EDTA

#### 2、【适用范围】

消化 RNA 中的 DNA 污染

#### 3、【使用方法】

One unit of the enzyme completely degrades 1 μg of plasmid DNA in 10 min at 37°C.

Enzyme activity is assayed in the following mixture: 40 mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM MgSO<sub>4</sub>, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 μg of pBR322 DNA.

DNase I 消化样品 RNA 中的 DNA 的程序

组份	加量
模板 (RNA)	10μg
RNase Inhibitor	4μl
DNase I buffer	10μl
DNase I	10μl
DEPC 处理 H <sub>2</sub> O	至 100μl
混匀 37℃ 90min	

## 三、荧光定量 PCR 类

#### (一) 2×qPCR SmartMix

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTQ-1001	2×qPCR SmartMix (通用)	80T(25ul 体系)	-20℃避光	MyLab	360
MTQ-1002	2×qPCR SmartMix(适用 ABI)	80T(25ul 体系)	-20℃避光	MyLab	360

#### 1、【特点】

本产品是非常方便的荧光定量检测试剂，以 2×qPCR Mix 的形式提供，已混合了 *Taq* DNA 聚合酶、dNTP、PCR Buffer、EvaGreen、稳定剂和增强剂等试剂，只需加入模板、引物即可进行定量 PCR 反应。EvaGreen 是 SYBR Green I 的升级替代产品，具有极高的灵敏度、超强稳定性、PCR 抑制性极小等优点(仪器的设置和 SYBR Green I 相同)。EvaGreen 与双链 DNA 结合，在激发光的作用下发出荧光，通过荧光强度的测定，即可确定双链 DNA 的含量。整个过程非常简单，最大限度的减少加样次数，有效避免加样误差及交叉污染。不用繁琐的条件摸索，同样可以获得精确度好、重复性高的定量 PCR 反应。

#### 2、【适用范围】

单个基因的 PCR 扩增及其荧光定量检测。

#### 3、【使用方法】

注意：以下举例多数情况下可参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况，设定最佳反应条件。

用 2×qPCR SmartMix 产品，以人基因组 DNA 为模板，扩增 0.3kb 的片段，反应体系为 20μl。如反应体系不同，可按此比例增加或减少用量。

- 1) 将 2×qPCR SmartMix、模板 DNA、引物以及双蒸水在室温融化后混匀。
- 2) 准备 PCR 反应混合物。冰浴中按下面的量加入各种反应物，混匀。



组份	加量
2×qPCR SmartMix	12.5μl
Primer 1 (5μM)	1μl
Primer 2 (5μM)	1μl
Template	<0.2μg
ddH <sub>2</sub> O	补至 20μl

按照下表所示，设置 PCR 扩增程序。

扩增某一模板时，一般在延伸步骤采集数据，PCR 反应完成后，进行熔解曲线分析。

步骤	时间	温度	说明
PCR 起始步骤	5 min	95°C	预变性
变性-退火-延伸或变性-退火延伸（即退火延伸为同一温度一般为 69°C、35S）			
变性	15 sec	94°C	
退火（温度可调）	30 sec	50-60°C	比引物的 T <sub>m</sub> 值大约低 3~6°C。
延伸	30 sec	72°C	如果未加入附加的数据获取步骤，则在这一步获取荧光数据。
可选：数据获取	15 sec	D °C	引物 T <sub>m</sub> < D < 产物 T <sub>m</sub>
循环数	35~40 个循环		循环数与模板 DNA 的量相关

## （二）20×EvaGreen 荧光染料

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTQ-1003	20×EvaGreen	500μl	-20°C 避光	美国 biotium	225
MTQ-1004	20×EvaGreen	5×500μl	-20°C 避光	美国 biotium	998
MTQ-1005	20×EvaGreen	1ml	-20°C 避光	美国 biotium	425
MTQ-1006	20×EvaGreen	5×1ml	-20°C 避光	美国 biotium	1950

### 1、【特点】

#### 1) 高的灵敏度

在推荐浓度下使用时可以获得最强的 PCR 扩增信号。

#### 2) PCR 抑制性极小

智能化的“按要求释放”DNA 结合技术使得 EvaGreen 对 PCR 的抑制远小于 SYBR Green I。

#### 3) 快速 PCR 兼容

对 PCR 干扰极小，从而极大的缩短了 PCR 延伸时间。

#### 4) 非常适合 HRM 分析

无“染料重分布”缺陷，兼容 PCR 后的高分辨率溶解曲线（HRM）分析。

#### 5) 兼容多重 PCR

在推荐浓度下使用时，无扩增子之间的染料迁移现象。

#### 6) 超强稳定性

在大部分生化条件下非常稳定，可在室温下储存并可反复冻融。

#### 7) 优越的兼容性

和 SYBR Green I 光谱相似，和各知名品牌的 qPCR 仪器兼容。用 EvaGreen<sup>TM</sup> 替代 SYBR Green I，毋须改变任何您目前使用的操作步骤和仪器设备。

### 2、【产品特性】

颜色和状态：室温下呈橙色液体

吸收/激发波长：500/525nm (DNA 结合态)

### 3、【储存方法】

1) 长期储存在 -20°C 以下，避光；

2) 4°C 环境可保存 6 个月以上，常温可保存 3~4 个星期；

3) 使用前用旋涡震荡仪震荡。



应用和推荐配方：

该产品可用作 real-time PCR 定量专用荧光指示剂。用于任何一台 real-time PCR 仪上进行 PCR 反应，可兼容原来的 SYBR Green I 或 FAM 的设置。EvaGreen 荧光信号强于 SYBR GREEN I。一般使用时将其稀释至 1× 浓度。

使用 EvaGreen™ 进行实时 PCR 定量参考配方(可根据需要加大或减少反应体积):

组份	加量
10x 无 Mg <sup>2+</sup> Taq 聚合酶 Buffer	5ul
25mM MgCl <sub>2</sub>	4ul
each of 10mM dNTP	1ul
20× EvaGreen	2.5 μl
Taq DNA 聚合酶 或热启动 Taq DNA 聚合酶	1~5U
引物	0.1~1μM
ddH <sub>2</sub> O	加至 50μl

### (三) 20× SmartGreen 荧光染料

产品编号	产品名称	规格	保存条件	产地	价格(元)
MTQ-1007	20× SmartGreen	500μl	-20℃ 避光	Mylab	310

#### 1、【特点】

1) 高的灵敏度

在推荐浓度下使用时可以获得最强的 PCR 扩增信号。

2) LAMP 抑制性极小

智能化的“按要求释放”DNA 结合技术使得 SmartGreen 对 LAMP 的抑制小

3) 快速 PCR 兼容

对 LAMP 干扰极小，从而极大的缩短了 LAMP 延伸时间。

4) 非常适合 HRM 分析

无“染料重分布”缺陷，兼容 LAMP 后的高分辨率熔解曲线 (HRM) 分析。

5) 超强稳定性

在大部分生化条件下非常稳定，可在室温下储存并可反复冻融。

#### 2、【产品特性】

颜色和状态：室温下呈橙色液体

吸收/激发波长：500/525nm (DNA 结合态)

#### 3、【储存方法】

长期储存在 -20℃ 以下，避光；

4℃ 环境可保存 6 个月以上，常温可保存 3~4 个星期；

使用前用旋涡震荡仪震荡。



## 四、MyLab™ 地高辛标记与杂交检测试剂盒

惊爆促销价:

1A/1B+2C (10次标记、20次化学显色法检测) +1E ≠ ~~4190~~ =2888 元

1A/1B+2D (10次标记、20次化学发光法检测) +1E ≠ ~~4590~~ =3168 元

1I/1J+2C (10次标记、20次化学显色法检测) +1E ≠ ~~5390~~ =3988 元

1I/1J+2D (10次标记、20次化学发光法检测) +1E ≠ ~~5790~~ =4268 元

产品序号	产品编号	产品名称	规格	价格(元)
A	DDLK-010	DIG DNA PCR 标记试剂盒	10T	1680
B	RDLK-010	随机引物法 DIG 标记试剂盒	10T	1680
C	DIGD-110	地高辛杂交检测试剂盒 I (NBT/BCIP 法)	10T	1180
D	DIGD-210	地高辛杂交检测试剂盒 II (化学发光法)	10T	1380
E	Hyb-50	Hyb 高效杂交液	50ml	180
F	Hyb-100	Hyb 高效杂交液	100ml	280
H	Hyb-500	Hyb 高效杂交液	500ml	1180
I	TDLK-010	末端加尾法 DIG 标记试剂盒	10T	2880
J	RNLK-010	DIG RNA 标记试剂盒(T7/SP6)	10T	2880

地高辛(DIG)标记与杂交检测具有以下特点和优点:

- 1) 安全—无放射性, 对研究人员健康无损害。
- 2) 灵敏—可以替代放射性同位素标记。
- 3) 应用面广—适用于 Southern Blot、Northern Blot、点杂交(Dot Blot)。
- 4) 菌落杂交(Colony Lift)、原位杂交(In Situ Hybridization)等。

## (一) DIG DNA PCR 法标记试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
DDLK-010	DIG DNA PCR 标记试剂盒	10T	1680	MyLab

## 1、【标记原理】

Dig-dUTP 在 Taq DNA 聚合酶的作用下, 经基因特异的引物 PCR 指数扩增, 可掺入到新合成的 DNA 分子中, 从而完成 DNA 探针的标记。在延伸反应中, 每 20~25 个核苷可有一个 Dig-dUTP 分子掺入到新合成的 DNA 链中。

## 2、【应用领域】

非同位素的 Southern Blot、Northern Blot、原位杂交 (ISH)、菌落杂交、斑点印迹杂交分析等。

## 3、【组成及保存条件】

编号	试剂盒组成	体积	保存条件
1	Dig-dUTP 标记混合物	10 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
2	Taq DNA聚合酶 (5U/ $\mu$ l)	100 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
3	10 $\times$ PCR Buffer (含15mM MgCl <sub>2</sub> )	1ml	-20 $^{\circ}$ C
4	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	250 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
5	对照引物F (10 $\mu$ M)	10 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
6	对照引物R (10 $\mu$ M)	10 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
7	对照模板DNA	10 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
8	无核酸酶ddH <sub>2</sub> O	300 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C

## 4、【操作步骤】

## 1) 探针标记

**注意:** 在探针标记前, 必须用普通 PCR 优化反应条件 (试剂盒中提供了过量的 Taq DNA 聚合酶及其 Buffer, 建议用于条件优化), 包括引物、退火温度、延伸时间、模板量等, 设定好最佳反应条件。任何非特异扩增可能导



致高的杂交背景甚至假阳性。

以下为试剂盒中对照引物和模板的 PCR 扩增条件（扩增产物长度 691bp），可参考操作。在标记反应的同时，用普通 dNTP 做一个相同体系的非标记 PCR 扩增。

制备反应液：

组份	加量
10×PCR Buffer	1μl/2μl
Primer F (10μM)	1μl/2μl
Primer R (10μM)	1μl /2μl
Dig-dUTP 标记混合物	1μl
Taq DNA Polymerase	0.5μl/1μl
Template	1μl (<1μg)
ddH <sub>2</sub> O	补至 10μl/20μl

PCR扩增：

95°C 5min; 95°C 30sec, 60°C 35sec, 72°C 45sec; 72°C 7min; 4°C  
  
 30 cycles

## 2) 标记探针检测

取标记产物和普通PCR扩增产物各1μl，1.0%的琼脂糖凝胶电泳。由于大分子量的DIG掺入，标记产物泳动速度比普通PCR产物要慢。所以根据电泳图就可以判断是否标记上和有没有非特异标记！其余标记产物-20°C保存。

## (二) 随机引物法 DIG 标记试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格（元）	产地
RDLK-010	随机引物法 DIG 标记试剂盒	10T	1680	MyLab

### 1、【标记原理】

Dig-dUTP 在 Klenow 酶的作用下，经随机引物引发，可掺入到新合成的 DNA 分子中，从而完成 DNA 探针的标记。在延伸反应中，每 20~25 个核苷可有一个 Dig-dUTP 分子掺入到新合成的 DNA 链中。

### 2、【应用领域】

非同位素的 Southern Blot、Northern Blot、原位杂交（ISH）、菌落杂交、斑点印迹杂交分析等。

### 3、【灵敏性】

在 1μg 已消化的人胎盘 DNA 的 Southern Blot，可检测到单拷贝的基因。

### 4、【组成及保存条件】。

编号	试剂盒组成	体积	保存条件
1	Dig-dUTP 标记混合物	10μl	-20°C
2	Klenow DNA聚合酶	10μl	-20°C
3	10×Klenow Reaction Buffer	20μl	-20°C
4	随机引物混合物	10μl	-20°C
5	未标记对照cDNA（作对照模板用）	10μl	-20°C
6	纯化PCR产物（作对照点杂交用）	10μl	-20°C
7	Dig标记的对照DNA（100pg/μl）	20μl	-20°C
8	无核酸酶H <sub>2</sub> O	300μl	-20°C
9	DNA稀释液	1ml	-20°C

### 5、【操作步骤】

#### 1) 探针标记

- ① 在反应管（如 0.2ml Axygen PCR 管）中加入 10ng~3μg 的模板 DNA，然后加入无核酸酶的水至 15μl。对照反应，加入 5μl 对照 DNA 和 10μl 无核酸酶的水。
- ② 在 95~100°C 加热 10min，然后迅速在冰水中冷却。



③ 分别加入 10×Klenow Reaction Buffer 2 $\mu$ l, 标记混合物 1 $\mu$ l, 随机引物混合物 1 $\mu$ l, Klenow 酶 1 $\mu$ l, 混匀并稍加离心将所有反应液收集到管底。37℃ 反应 1~20h。(延长反应时间可增加标记产物的量)

④ 加入 2 $\mu$ l 0.2M EDTA (pH 8.0) 或者加热到 65℃ 钝化 10min 终止反应。

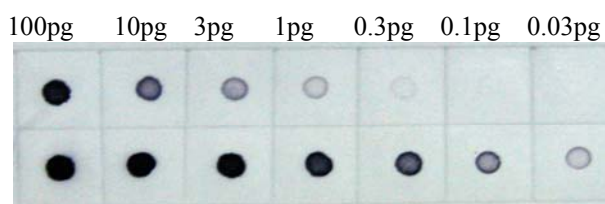
## 2) 标记探针定量

取 1 $\mu$ l 标记产物和 Dig 标记的对照 DNA, 用 DNA 稀释液按下表稀释后点样于带正电荷尼龙膜上。用紫外交联仪或真空烘烤固定 DNA 探针, 按 DIG 杂交检测试剂盒的方法进行信号检测, 然后与膜条上的 Dig 标记的对照 DNA 信号强度对比, 推算出标记的探针浓度。如初始模板量很大且反应时间很长, 可取 1 $\mu$ l 标记产物稀释 10~100 倍后定量。

稀释方法

试管号	来源管号	标记的DNA	DNA稀释液	稀释倍数	终浓度
1	原液	1 $\mu$ l	--	--	100pg/ $\mu$ l
2	1	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	10 pg/ $\mu$ l
3	2	3 $\mu$ l	7 $\mu$ l	1:3.3	3 pg/ $\mu$ l
4	2	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	1pg/ $\mu$ l
5	3	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.3pg/ $\mu$ l
6	4	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.1 pg/ $\mu$ l
7	5	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.03 pg/ $\mu$ l

图示:



### (三) 地高辛杂交检测试剂盒 I (NBT/BCIP 法)

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
DIGD-110	地高辛杂交检测试剂盒 I (NBT/BCIP 法)	10T	1180	MyLab

#### 1、【组成】

编号	试剂盒组成	体积	保存条件
1	阻断液母液(10×)	50 ml	-20℃
2	抗 DIG-AP 酶结合物	20 $\mu$ l	4℃
3	NBT/BCIP 显色底物	2 ml	-20℃
4	检测缓冲液(5×)	50 ml	室温
5	马来酸缓冲液(干粉)	可配 1L	室温
6	Tween-20	3 ml	室温
7	10% SDS	20 ml	室温
8	20×SSC	100 ml	室温

#### 2、【准备工作】

将马来酸缓冲液(干粉)用 800ml 水溶解, 反复冲洗干净瓶内干粉。检查 pH 是否为 7.5。定溶至 1L。灭菌。使用前先用 DEPC/无 RNase 水将 5×检测缓冲液稀释成 1×工作液。

#### 3、【操作步骤】

##### 1) 预杂交

- ① 将固定后的膜(可用干净的剪刀将膜溴酚蓝以下的部分剪去)放入杂交袋中, 在封口机上将杂交袋三面封口。
- ② 加入 65℃ 预热的 Hyb 高效杂交液 5ml, 排尽气泡, 封口。放 65℃ 水浴振荡杂交 1~2 小时。
- ③ 如果使用杂交管杂交, 则根据杂交管体积, 加入适量的杂交液(5~10ml)。如果膜的大小适中, 也可以用无菌的 50ml 离心管(BD 公司)进行, 5ml 杂交液已足够。将杂交仪设定为 65℃, 8~15 转/分钟预杂交 1~2 小时。

##### 2) 杂交

- ① 探针的处理: 将标记好的探针放 100℃ 煮 10 分钟, 立即放冰浴冷却 10 分钟。
- ② 将杂交袋从水浴中取出, 剪去一角并尽可能的排尽袋中的预杂交液, 取 5ml Hyb 高效杂交液, 加入变性的探针



(1~3 $\mu$ l/膜, 5~20ng/ml Hyb 杂交液), 混匀。加入到杂交袋中, 小心排尽气泡, 封口, 65 $^{\circ}$ C 水浴振荡杂交过夜。

③ 如果使用杂交管杂交, 则倒出预杂交液, 另取适量的 Hyb 高效杂交液(5~10ml), 加入变性过的探针(1~3 $\mu$ l/膜, 或 5~20ng/ml Hyb 高效杂交液), 混匀。加入到杂交管中, 杂交仪设定为 65 $^{\circ}$ C, 8~15 转/分钟, 杂交过夜。

### 3) 洗膜

① 剪开杂交袋, 用镊子取出膜, 放入装有 20ml 的 2 $\times$ SSC, 0.1% SDS 溶液的平皿中, 在室温下振荡洗涤两次, 每次 5 分钟。

② 用镊子将膜转入 0.1 $\times$ SSC, 0.1%SDS 溶液(先放 50 $^{\circ}$ C 水浴预热)中, 50 $^{\circ}$ C 水浴振荡洗涤两次, 每次 15 分钟。

③ 用镊子将膜取出转入装有 20ml 洗涤缓冲液的平皿中振荡洗涤 5 分钟。

### 4) 信号检测

① 所需试剂:

请按下表组份准备所需试剂。

溶液	组份/制备	储存/稳定性
洗涤缓冲液	0.1M 顺丁烯二酸, 0.15M NaCl; pH7.5(20 $^{\circ}$ C); 0.3% (v/v) Tween-20	15~25 $^{\circ}$ C 稳定
马来酸缓冲液	0.1M 马来酸, 0.15M NaCl; 用 NaOH 调节到 pH 7.5(20 $^{\circ}$ C)	15~25 $^{\circ}$ C 稳定
检测缓冲液	0.1M Tris-HCl, 0.1M NaCl, pH 9.5 (20 $^{\circ}$ C)	15~25 $^{\circ}$ C 稳定
TE 缓冲液	10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0	15~25 $^{\circ}$ C 稳定

### ② 制备试剂盒工作液

溶液	组份/制备	储藏稳定性	用途
阻断液	用马来酸缓冲液按 1:10 稀释 10 $\times$ 阻断液, 制备成 1 $\times$ 工作液。	每次新鲜制备	阻断非特异性结合位点
抗体溶液	每次使用前, 需 10,000rpm 离心抗 Dig-AP 5 分钟, 从表面小心吸取所需的量。用阻断液按 1:5000 稀释抗体。	2~8 $^{\circ}$ C 12 小时	结合 DIG 标记的探针
显色底物液	加 200 $\mu$ l NBT/BCIP 到 10 ml 检测缓冲液中。注意: 避光存放!	每次新鲜制备	显现抗体结合

③ 流程: 在杂交膜上进行信号检测。

**注意:** 所有孵育过程应在 15~25 $^{\circ}$ C 下搅动进行。如果膜要用于再杂交, 则不要让膜在任何时候变干。

步骤	操作
1	在杂交和严谨洗涤后, 在洗涤缓冲液中浸润 1-5 分钟。
2	在 20~30ml 阻断液中孵育 30 分钟。
3	在 10ml 抗体液中孵育 30 分钟。
4	用 20~30ml 洗涤液洗涤 2 $\times$ 15 分钟。
5	在 15ml 检测缓冲液中平衡 2~5 分钟。
6	在避光条件下, 于 10ml 新鲜制备的显色底物液中反应显色。在显色过程中勿摇动。 <b>注意:</b> 在几分钟内即有颜色开始沉淀, 并在 16 h 后完成反应。为检测显色程度, 膜可以短时间暴露于光线下。
7	当达到所需的点或带强度后, 用 50ml 双蒸水或 TE-缓冲液将膜漂洗 5 分钟终止反应。结果可照相或复印保存。



## ④ 问题解答

问题	可能的原因	推荐改进方法
灵敏度低	探针非有效标记	1、检查标记效率。标记反应可放大，并延长反应时间至过夜。 2、酚抽提清洁模板 DNA。 3、仅使用≤5kb 或用限制性内切酶预消化的片段。确认模板标记前已有效变性。 使用 PCR 法标记探针。
	杂交中探针浓度低	增加探针浓度，但 DNA 探针不要超过 25ng/ml。 检查杂交和洗涤条件。 延长杂交时间。 延长显色时间至 16 小时。
背景高	非有效杂交	重新计算杂交温度。 在预杂交和杂交间，避免膜变干。 如使用杂交袋，密封前赶尽所有气泡。
	错误类型的尼龙膜	某些类型的尼龙膜可能导致高背景，请使用美莱博公司特别验证过的尼龙膜。
	信号检测前未有效封闭	延长封闭和洗涤步骤
	未有效进行严谨洗涤	预热溶液到所需温度，并检查洗涤时的温度。

## (四) 地高辛杂交检测试剂盒 II (CDP-Star)法

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
DIGD-210	地高辛杂交检测试剂盒 II (CDP-Star 法)	10T	1380	MyLab

## 1、【组成】

编号	试剂盒组成	体积	保存条件
1	阻断液母液(10×)	50ml	-20℃
2	抗DIG-AP 酶结合物	10μl	4℃
3	CDP-Star发光底物	50μl	4℃
4	检测缓冲液(5×)	50ml	室温
5	马来酸缓冲液(干粉)	可配1L	室温
6	Tween-20	3ml	室温
7	10% SDS	20ml	室温
8	20×SSC	100ml	室温

## 2、【准备工作】

将马来酸缓冲液(干粉)用 800ml 水溶解，反复冲洗干净瓶内干粉。检查 pH 是否为 7.5。定溶至 1L。灭菌。使用前先用 DEPC/无 RNase 水将 5×检测缓冲液稀释成 1×工作液。

## 3、【操作步骤】

## 1) 预杂交

- ① 将固定后的膜（可用干净的剪刀将膜溴酚蓝以下的部分剪去）放入杂交袋中，在封口机上将杂交袋三面封口。
- ② 加入 65℃预热的 Hyb 高效杂交液 5ml，排尽气泡，封口。放 65℃水浴振荡杂交 1~2 小时。
- ③ 如果使用杂交管杂交，则根据杂交管体积，加入适量的杂交液(5~10ml)。如果膜的大小适中，也可以用无菌的 50ml 离心管(BD 公司)进行，5ml 杂交液已足够。将杂交仪设定为 65℃，8~15 转/分钟预杂交 1~2 小时。

## 2) 杂交

- ① 探针的处理：将标记好的探针放 100℃煮 10 分钟，立即放冰浴冷却 10 分钟。
- ② 将杂交袋从水浴中取出，剪去一角并尽可能的排尽袋中的预杂交液，取 5ml Hyb 高效杂交液，加入变性的探针(1~3μl/膜，5~20ng/ml Hyb 杂交液)，混匀。加入到杂交袋中，小心排尽气泡，封口，65℃水浴振荡杂交过夜。
- ③ 如果使用杂交管杂交，则倒出预杂交液，另取适量的 Hyb 高效杂交液(5~10ml)，加入变性过的探针(1~3μl/膜，或 5~20ng/ml Hyb 高效杂交液)，混匀。加入到杂交管中，杂交仪设定为 65℃，8~15 转/分钟，杂交过夜。

## 3) 洗膜



- ① 剪开杂交袋，用镊子取出膜，放入装有 20ml 的 2×SSC，0.1% SDS 溶液的平皿中，在室温下振荡洗涤两次，每次 5 分钟。
- ② 用镊子将膜转入 0.1×SSC，0.1%SDS 溶液(先放 50℃水浴预热)中，50℃水浴振荡洗涤两次，每次 15 分钟。
- ③ 用镊子将膜取出转入装有 20ml 洗涤缓冲液的平皿中振荡洗涤 5 分钟。

## 4) 信号检测

## ① 所需试剂:

请按下表组份准备所需试剂。

溶液	组份/制备	储存/稳定性
洗涤缓冲液	0.1M 顺丁烯二酸， 0.15M NaCl; pH7.5(20° C); 0.3% (v/v) Tween-20	15~25°C 稳定
马来酸缓冲液	0.1M 马来酸， 0.15M NaCl; 用 NaOH 调节到 pH 7.5(20°C)	15~25°C 稳定
检测缓冲液	0.1M Tris-HCl, 0.1M NaCl, pH 9.5 (20°C)	15~25°C 稳定
TE 缓冲液	10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0	15~25°C 稳定

## ② 制备试剂盒工作液

溶液	组份/制备	储藏稳定性	用途
阻断液	用马来酸缓冲液按 1:10 稀释 10×阻断液，制备成 1×工作液。	每次新鲜制备	阻断非特异性结合位点
抗体溶液	每次使用前，需 10,000rpm 离心抗 Dig-AP 5 分钟，从表面小心吸取所需的量。用阻断液按 1:5000 稀释抗体。	2~8°C 12 小时	结合 DIG 标记的探针
显色底物液	加 200μl NBT/BCIP 到 10 ml 检测缓冲液中。注意：避光存放!	每次新鲜制备	显现抗体结合

## ③流程：在杂交膜上进行信号检测。

步骤	操作
1	在杂交和严谨洗涤后，在洗涤缓冲液中浸润 1-5 分钟。
2	在 20~30ml 阻断液中孵育 30 分钟。
3	在 10ml 抗体液中孵育 30 分钟。
4	用 20~30ml 洗涤液洗涤 2×15 分钟。
5	在 15ml 检测缓冲液中平衡 2~5 分钟。
6	将膜夹在两层保鲜膜中间，将上层保鲜膜提起，沿尼龙膜的左边加入 1ml 新鲜配制的发光底物液，然后缓慢放下上层保鲜膜，使底物均匀地覆盖膜的表面。于室温静置作用 5min。
7	用镊子夹住膜的边缘轻轻提起，让多余的底物液流出，并用滤纸吸干膜外的底物液，在暗室中用 X 光片压片并进行曝光、显影、定影。 <b>注意：</b> 发光可持续 24h，且第 1h 内其信号强度保持稳定，基本无变化。可多次曝光以获得最佳信号强度。

**注意：**所有孵育过程应在 15~25°C 下搅动进行。如果膜要用于再杂交，则不要让膜在任何时候变干。



## ④ 问题解答

问题	可能的原因	推荐改进方法
灵敏度低	探针非有效标记	1、检查标记效率。标记反应可放大，并延长反应时间至过夜。 2、酚抽提清洁模板 DNA。 3、仅使用≤5kb 或用限制性内切酶预消化的片段。确认模板标记前已有效变性。 使用 PCR 法标记探针。
	杂交中探针浓度低	增加探针浓度，但 DNA 探针不要超过 25ng/ml。 检查杂交和洗涤条件。 延长杂交时间。 延长显色时间至 1 小时。 使用不对称 PCR 法标记探针。
背景高	非有效杂交	重新计算杂交温度。 在预杂交和杂交间，避免膜变干。 如使用杂交袋，密封前赶尽所有气泡。
	错误类型的尼龙膜	某些类型的尼龙膜可能导致高背景，请使用美莱博公司特别验证过的尼龙膜。
	检测前未有效洗膜封闭	适当提高洗涤温度。 延长封闭和洗涤时间。
	未有效进行严谨洗涤	预热溶液到所需温度，并检查洗涤时的温度。
	曝光过度	缩短曝光时间(15~60s)。 使用更少的化学发光底物。

## (五) 末端加尾法 DIG 标记试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
TDLK-010	末端加尾法 DIG 标记试剂盒	10T	2880	MyLab

## 1、【标记原理】

Dig-dUTP 和 dATP 在末端转移酶的作用下，加尾到短链 oligo 分子的 3'端，从而完成 DNA 探针的标记。在加尾反应中，每条 oligo 可加上 10~100nt（平均 50nt）的尾，其中含约 5 个 Dig-dUTP 分子。

## 2、【应用领域】

原位杂交 (ISH)、MicroRNA 等小 RNA 的非放射性检测、Northern Blot（表达丰度较高的）、Southern Blot（不推荐用于单拷贝基因检测）、菌落杂交、斑点印迹杂交分析等。

## 3、【组成及保存条件】

编号	试剂盒组成	体积	保存条件
1	Dig-dUTP 标记物	10μl	-20℃
2	10mM dATP	10μl	-20℃
3	末端转移酶 (20U/μl)	20μl	-20℃
4	5×Reaction Buffer	40μl	-20℃
5	Poly(dA)溶液	20μl	-20℃
6	10μM未标记oligo (作对照模板用)	10μl	-20℃
7	Dig标记的对照DNA (100pg/μl)	20μl	-20℃
8	无核酸酶H <sub>2</sub> O	300μl	-20℃
9	DNA稀释液	1ml	-20℃



## 4、【操作步骤】

## 1) 探针标记

步骤	操作方法
1	在反应管(如0.2ml微量离心管)中加入100pmol的模板oligo, 然后加入无核酸酶的水至12 $\mu$ l。对照反应, 加入10 $\mu$ l对照oligo和2 $\mu$ l无核酸酶的水。
2	冰浴中分别加入5 $\times$ Reaction Buffer 4 $\mu$ l, Dig-dUTP 1 $\mu$ l, dATP 1 $\mu$ l, 末端转移酶2 $\mu$ l, 混匀并稍加离心将所有反应液收集到管底。37 $^{\circ}$ C反应15min。
3	加热到70 $^{\circ}$ C钝化10min或者加入2 $\mu$ l 0.2M EDTA (pH 8.0)终止反应。标记探针勿需纯化, 可在-20 $^{\circ}$ C存放至少1年以上。

dATP 可以不加, 或用其它三种 dNTP 及其混合物替代, 详见注意事项!

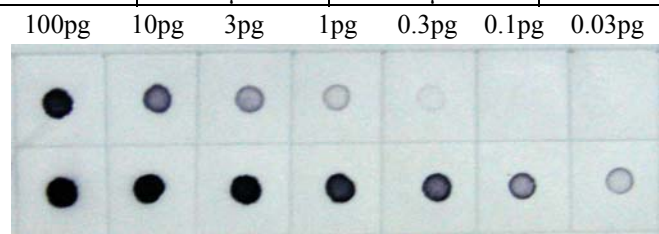
## 2) 标记探针定量

取1 $\mu$ l标记产物和Dig标记的对照DNA, 用DNA稀释液按下表稀释后点样于带正电荷尼龙膜上。用紫外交联仪或真空烘烤固定DNA探针, 按DIG杂交检测试剂盒的方法进行信号检测, 然后与膜条上的Dig标记的对照DNA信号强度对比, 推算出标记的探针浓度。如初始模板量大, 可取1 $\mu$ l标记产物稀释10~100倍后定量。

稀释方法

试管号	来源管号	标记的DNA	DNA稀释液	稀释倍数	终浓度
1	原液	1 $\mu$ l	--	--	100pg/ $\mu$ l
2	1	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	10 pg/ $\mu$ l
3	2	3 $\mu$ l	7 $\mu$ l	1:3.3	3 pg/ $\mu$ l
4	2	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	1pg/ $\mu$ l
5	3	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.3pg/ $\mu$ l
6	4	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.1 pg/ $\mu$ l
7	5	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.03 pg/ $\mu$ l

图示:



## (六) DIG RNA 标记试剂盒(T7/SP6)

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
RNLK-010	DIG RNA 标记试剂盒 (T7/SP6)	10T	2880	MyLab

## 1、【标记原理】

以具有 T7/SP6 启动子序列

(T7: 5'-TAATACGACTCACTATAGGG; SP6: 5'-ATTTAGGTGACACTATAGAA) 的线性 DNA 作为模板, 在 T7 或 SP6 RNA 聚合酶的作用下, 可从转录起始位点 (+1, G, 红色) 聚合产生大量的 RNA 分子。转录中掺入 Dig-UTP 标记混合物, 从而得到地高辛标记的 RNA 探针。每 20~25 个碱基中可标记上 1 个地高辛分子。

## 2、【应用领域】

原位杂交 (ISH)、MicroRNA 等小 RNA 的非放射性检测、Northern Blot/Southern Blot、菌落杂交/斑点印迹杂交分析、RNase 保护实验等。



## 3、【组成及保存条件】

编号	试剂盒组成	体积	保存条件
1	Dig-UTP 标记混合物	20 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
2	5 $\times$ Reaction Buffer	100 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
3	T7 RNA聚合酶 (20U/ $\mu$ l)	15 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
4	SP6 RNA聚合酶 (20U/ $\mu$ l)	15 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
5	RNase Inhibitor, 25U/ $\mu$ l	20 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
6	Vector pTZ19R DNA, 0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l	20 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
7	Control Template*, 100ng/ $\mu$ l	20 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
8	Dig标记的对照RNA (100ng/ $\mu$ l)	5 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
9	DEPC-treated Water	1ml	-20 $^{\circ}$ C

\*: pTZ19R 载体, 在Ecl136 II位点插入341bp片断, 并用EcoR I线性化。可用作2次T7 RNA聚合酶转录的对照反应, 产生401个碱基的转录子。

## 4、【操作步骤】

## 1) 探针标记

步骤	操作方法
1	在反应管(如0.2ml离心管)中加入1 $\mu$ g 线性模板DNA, 然后加入无核酸酶的水至11.5 $\mu$ l。对照反应, 加入10 $\mu$ l Control Template和1.5 $\mu$ l无核酸酶的水。
2	室温下分别加入5 $\times$ Reaction Buffer 4 $\mu$ l, RNase Inhibitor 1 $\mu$ l, Dig-UTP 标记混合物2 $\mu$ l, T7或 SP6 RNA聚合酶1.5 $\mu$ l, 混匀并稍加离心将所有反应液收集到管底。37 $^{\circ}$ C反应2h(更长的反应时间并不显著增加标记RNA的产率)。
3	加热到70 $^{\circ}$ C钝化10min或者加入2 $\mu$ l 0.2M EDTA (pH 8.0)终止反应。

## 2) 标记探针定量

取0.5 $\mu$ l标记产物和Dig标记的对照RNA, 用新鲜配制的RNA稀释液按下表稀释后, 立即将2~7号管取1 $\mu$ l点样于带正电荷尼龙膜上。用紫外交联仪或真空烘烤固定RNA探针, 按DIG杂交检测试剂盒的方法进行信号检测, 然后与膜条上的Dig标记的对照RNA对比信号强度, 推算出标记的探针浓度。

信号检测参照美莱博公司DIG杂交检测试剂盒I(NBT/BCIP化学显色法)或II(CDP-Star化学发光法)的说明书操作。

标记的RNA探针可以用于标准的杂交程序, 建议使用的杂交探针浓度为20~100 ng/ml杂交液。探针可在-20 $^{\circ}$ C存放至少1年以上。避免反复冻融探针。

## 稀释方法

试管号	来源管号	标记的RNA	RNA稀释液*	稀释倍数	终浓度
1	原液	0.5 $\mu$ l	4.5 $\mu$ l	1:10	10ng/ $\mu$ l
2	1	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	1ng/ $\mu$ l
3	2	1 $\mu$ l	99 $\mu$ l	1:100	10 pg/ $\mu$ l
4	3	3 $\mu$ l	7 $\mu$ l	1:3.3	3pg/ $\mu$ l
5	3	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	1pg/ $\mu$ l
6	4	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.3pg/ $\mu$ l
7	5	1 $\mu$ l	9 $\mu$ l	1:10	0.1pg/ $\mu$ l

\*: 每次新鲜配制0.5ml RNA稀释液: 250 $\mu$ l无核酸酶的水、150 $\mu$ l 20 $\times$  SSC、100 $\mu$ l 甲醛。  
如一次完成多个标记, 可按比例增加。



### (七) Hyb 高效杂交液

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
Hyb-50	Hyb 高效杂交液	50ml	180	MyLab
Hyb-100	Hyb 高效杂交液	100ml	280	MyLab
Hyb-500	Hyb 高效杂交液	500ml	1180	MyLab

Hyb 高效杂交液是经优化的适合在正电荷尼龙膜上进行 Northern 和 Southern 杂交分析的杂交液, 典型的膜杂交需要长时间的孵育并且实验条件难于优化。而 Hyb 高效杂交液的独特配方和操作规程可有效地消除这些困难。Hyb 高效杂交液仅需要杂交 6~12 小时, 而常规杂交则需要 12~24 小时。它也能明显地降低非放射性检测的背景。以使 Northern 膜上的低拷贝 RNA 和 Southern 膜上的单拷贝基因得以检出。Hyb 高效杂交液也适于各类 cDNA 表达芯片等。Hyb 高效杂交液可用于探针的放射性和非放射性标记, 并且在杂交后运用放射性和化学发光检测系统(如地高辛标记的探针)可得到相当的结果。

## 五、U-LAMP/RT-LAMP 类

### (一) U-LAMP 通用扩增试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
LAD-50	U-LAMP 通用扩增试剂盒	50T	880	MyLab

#### 1、【基本原理】

环介导等温扩增技术 (Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP) 是一种新颖的核酸扩增方法。其基本原理是采用 4/6 条特异引物 (针对基因的 6/8 个区域) 及一种具有链置换活性的 DNA 聚合酶, 在 60-65°C 对核酸进行等温扩增, 15-60min 扩增效率可达到  $10^9 \sim 10^{10}$  个拷贝。

#### 2、【应用领域】

人类及动植物细菌、病毒、寄生虫、真菌等病原体的快速检测。U-LAMP 通用型 DNA 扩增试剂盒可以用于一切与 LAMP 相关的快速 DNA 等温扩增技术。其中, 2×U-LAMP Mix 包含了除酶、引物和模板外的所有成份, 使用十分方便; 优化的 DNA 聚合酶配方, 使得扩增更加快速高效。

#### 3、【组成及保存条件】

编号	试剂盒组成	体积(50T)	保存条件
1	2×U-LAMP Mix *	500μl	-20°C
2	<i>Bst</i> DNA 聚合酶混合物	75μl	-20°C
3	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	200μl	-20°C
4	对照引物 Mix (10×)	10μl	-20°C
5	对照模板 DNA (10 <sup>4</sup> copies/μl)	10μl	-20°C
6	无核酸酶 ddH <sub>2</sub> O	1000μl	-20°C

\*: 2×Mix 的组成为 40mM Tris-HCl (pH 8.8), 20mM KCl, 20mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10mM MgSO<sub>4</sub>, 0.2% Triton X-100, 2.4mM dNTP、1.6M 甜菜碱及其它稳定剂和增强剂。

#### 4、【使用方法】

使用时只需取适量 2× U-LAMP Mix 溶液, 加入酶、引物和模板, 并加入去离子水补足体积, 使 U-LAMP Mix 的浓度为 1× 即可进行反应。1× U-LAMP Mix 中 Mg<sup>2+</sup>浓度为 5mM, 可根据实验需要补加 MgCl<sub>2</sub> (试剂盒中已提供)。

#### 5、【反应举例】

**注意:** 以下举例多数情况下可供参考。实际反应条件因模板、引物等的不同而各异, 需根据实际情况, 设定最佳反应条件。

以结核杆菌基因组 DNA 为模板, 扩增结核杆菌 *gyrB* 基因, 反应体系为 20μl。

##### 1) 制备反应液

在冰上溶解除酶外的各种组份, 混匀, 稍离心。在反应管中加入以下组份:



组份	加量
2× U-LAMP Mix	10μl
对照引物 Mix	2μl
25mM MgCl <sub>2</sub>	3μl
Template DNA	1μl
<i>Bst</i> DNA 聚合酶混合物	1.5μl
ddH <sub>2</sub> O	补至 20μl

如在反应管中加入 20×SmartGreen (美莱博公司生产, 另售) 1μl, 可直接在荧光定量 PCR 仪中进行荧光定量检测。

### 2) 等温扩增

混匀, 置于 60~65℃ 保温 30~90min, 80℃ 10min 灭活 *Bst* DNA 聚合酶。产物置于 -20℃ 备用或立即用于下游检测。

### 3) 扩增产物的检测

有以下几种常用方案:

- ① 琼脂糖凝胶电泳。取扩增产物 5μl, 1~2% 的琼脂糖凝胶电泳, 可见 LAMP 特征性电泳图谱;
- ② 向扩增产物中直接加入 20×SmartGreen (美莱博公司生产, 另售) 1μl, 混匀, 稍离心。将反应管置于紫外透射仪或凝胶成像系统中, 紫外灯下可见绿色荧光产生;
- ③ 荧光定量检测;
- ④ 反应产物沉淀的肉眼检测等。

## (二) RT-LAMP 通用型 RNA 快速扩增试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
LAR-50	RT-LAMP 通用型 RNA 快速扩增试剂盒	50T	1680	MyLab

### 1、【基本原理】

逆转录环介导等温扩增技术 (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification, RT-LAMP) 是一种新颖的 RNA 扩增方法。其基本原理是采用 4/6 条特异引物 (针对基因的 6/8 个区域) 及一种具有链置换活性的 DNA 聚合酶和 AMV 反转录酶, 再 60~65℃ 左右对 RNA 进行同步反转录及等温扩增, 短时间扩增效率可达到  $10^9 \sim 10^{10}$  个拷贝。

### 2、【应用领域】

RT-LAMP 通用型 RNA 扩增试剂盒可以用于一切与 LAMP 相关的快速 RNA 等温扩增技术。其中, 2×U-LAMP Mix 包含了除酶、引物和模板外的所有成份, 使用十分方便; 优化的酶配方, 使得扩增更加快速高效。

### 3、【组成及保存条件】

编号	试剂盒组成	体积(50T)	保存条件
1	2×U-LAMP Mix *	500μl	-20℃
2	<i>Bst</i> DNA 聚合酶混合物	75μl	-20℃
3	AMV RNA 聚合酶	50μl	-20℃
4	MgCl <sub>2</sub> (25 Mm)	200μl	-20℃
5	对照引物 Mix (10×)	10μl	-20℃
6	对照模板 RNA	10μl	<-20℃
7	无核酸酶 ddH <sub>2</sub> O	1000μl	-20℃

\*: 2×Mix 的组成为 40mM Tris-HCl (pH 8.8), 20mM KCl, 20mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 16mM MgSO<sub>4</sub>, 0.2% Triton X-100, 2.4mM dNTP、1.6M 甜菜碱及其它稳定剂和增强剂。

### 4、【使用方法】

使用时只需取适量 2× U-LAMP Mix 溶液, 加入酶、引物和模板 RNA, 并加入去离子水补足体积, 使 U-LAMP Mix 的浓度为 1× 即可进行反应。1× U-LAMP Mix 中 Mg<sup>2+</sup> 浓度为 8mM, 可根据实验需要补加 MgCl<sub>2</sub> (试剂盒中已提供)。



## 5、【反应举例】

**注意：**以下举例多数情况下可供参考。实际反应条件因模板、引物等的不同而各异，需根据实际情况，设定最佳反应条件。

以乳腺癌细胞 RNA 为模板，扩增 CK19 基因，反应体系为 20 $\mu$ l。

### 1) 制备反应液

在冰上溶解除酶外的各种组份，混匀，稍离心。在反应管中加入以下组份：

组份	加量
2 $\times$ U-LAMP Mix	10 $\mu$ l
对照引物 Mix	2 $\mu$ l
Template DNA	2 $\mu$ l
<i>Bst</i> DNA 聚合酶混合物	1.5 $\mu$ l
AMV RNA 聚合酶	1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	补至 20 $\mu$ l

如在反应管中加入 20 $\times$ SmartGreen（美莱博公司生产，另售）1 $\mu$ l，可直接在荧光定量 PCR 仪中进行荧光定量检测。

### 2) 等温扩增

混匀，置于 60 $^{\circ}$ C 保温 30~90min，80 $^{\circ}$ C 10min 灭活 *Bst* DNA 聚合酶。产物置于 -20 $^{\circ}$ C 备用或立即用于下游检测。

### 3) 扩增产物的检测

有以下几种常用方案：

- ① 琼脂糖凝胶电泳。取扩增产物 5 $\mu$ l，1~2% 的琼脂糖凝胶电泳，可见 LAMP 特征性电泳图谱；
- ② 向扩增产物中直接加入 20 $\times$ SmartGreen（美莱博公司生产，另售）1 $\mu$ l，混匀，稍离心。将反应管置于紫外透射仪或凝胶成像系统中，紫外灯下可见绿色荧光产生；
- ③ 荧光定量检测；
- ④ 反应产物沉淀的肉眼检测等。

## 六、DNA/RNA Maker 类

### （一）DNA Marker

货号	产品名称	规格	保存	价格	产地
MK-01	100bp Ladder	0.3ml/管, 50 次	-20 $^{\circ}$ C	120	MyLab
MK-02	DL2000	0.3ml/管, 50 次	-20 $^{\circ}$ C	56	MyLab
MK-03	DNA Marker 1	0.3ml/管, 50 次	-20 $^{\circ}$ C	100	MyLab
MK-04	DNA Marker 11	0.3ml/管, 50 次	-20 $^{\circ}$ C	100	MyLab

### 1、【规格】

0.3ml/管，50 次。

### 2、【特点】

成熟的工业化标准化生产，严格的质量控制保证了产品的稳定性，所有 Marker 在室温下能放置一个月而不降解。取 6  $\mu$ l 电泳时，亮度完全满足实验要求。独特的生产工艺，保证了每条 DNA 片段长度准确、清晰单一，无拖尾现象。已含有 1 $\times$ Loading Buffer，直接取样电泳，使用十分方便。

### 3、【保存条件】

-20 $^{\circ}$ C 长期保存，多次冻融不会影响质量。如经常使用，可存放于 4 $^{\circ}$ C。

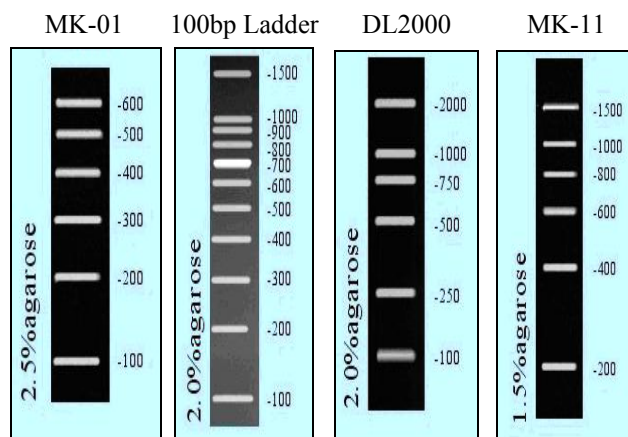
### 4、【适用范围】

本产品用于凝胶电泳中双链 DNA 分子量大小的参照。



## 5、【使用方法】

直接上样电泳，每次加样量为 6 $\mu$ l。



## (二) RNA Marker (RiboRuler™ RNA Ladders)

货号	产品名称	规格	保存	价格	产地
SM1831	100-1000b	5×20ul, 50 次	-20℃	1100	美国 MBI
SM1833	100-1000b ready-to-use	5×40ul, 50 次	-20℃	1280	美国 MBI
SM1821	200-6000b	5×20ul, 50 次	-20℃	1250	美国 MBI
SM1823	200-6000b ready-to-use	5×40ul, 50 次	-20℃	1380	美国 MBI

- Provide accurate size determination of single-stranded RNA.
- Precise RNA concentration allows for RNA quantification on gels.
- Stable at -20℃ for 6 months, minimum.
- Form sharp bands of uniform intensity.

## Description &amp; Other Information

## Product List:

- RiboRuler™ Low Range RNA Ladder (100-1000 b)
- RiboRuler™ Low Range RNA Ladder, ready-to-use (100-1000 b)
- RiboRuler™ High Range RNA Ladder (200-6000 b)
- RiboRuler™ High Range RNA Ladder, ready-to-use (200-6000 b)

## (三) RiboRuler™ RNA Ladder, Low Range

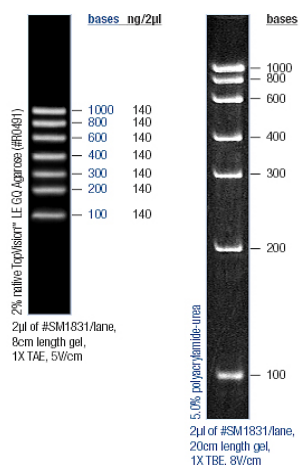
The RiboRuler™ Low Range RNA Ladder is a mixture of seven chromatography-purified single-stranded RNA transcripts. The RNA concentration of each ladder band is precisely measured by spectrophotometry (*see photos below*), which makes this ladder ideal for approximate RNA quantification on gels.

The RiboRuler™ Low Range RNA Ladder is recommended for electrophoresis in the following: native 2% agarose with TAE buffer, denaturing formaldehyde agarose with MOPS buffer, denaturing glyoxal/DMSO agarose with sodium phosphate buffer and denaturing polyacrylamide gel electrophoresis in TBE buffer.

The ladder is supplied with 2X RNA Loading Dye.

Volume, $\mu$ l	Applications	Loading, $\mu$ l/8 mm lane	Range, bases	Fragments	Agarose, %	PAGE, %
100 (5x20)	50	2	100-1000	7	1.7-2.5	4-8
200 (5x40)	50	4	100-1000	7	1.7-2.5	4-8





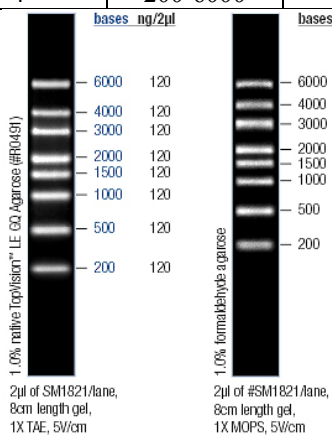
**(四) RiboRuler™ RNA Ladder, High Range**

The RiboRuler™ High Range RNA Ladder is a mixture of eight chromatography-purified single-stranded RNA transcripts. The RNA concentration of each ladder band is precisely measured by spectrophotometry (*see photos below*), which makes this ladder ideal for approximate RNA quantification on gels.

The RiboRuler™ High Range RNA Ladder is recommended for electrophoresis in the following: native 1% agarose with TAE buffer, denaturing formaldehyde agarose with MOPS buffer and denaturing glyoxal/DMSO agarose with sodium phosphate buffer.

The ladder is supplied with 2X RNA Loading Dye.

Volume, µl	Applications	Loading, µl/8 mm lane	Range, bases	Fragments	Agarose, %	PAGE, %
100 (5x20)	50	2	200-6000	8	0.8-1.5	-
200 (5x40)	50	4	200-6000	8	0.8-1.5	-



**Recommendations for Loading** (*see Protocols for RNA Electrophoresis*)

- Use the supplied 2X RNA Loading Dye for sample RNA and ladder RNA. Loading equal volumes of sample RNA and ladder RNA is recommended.
- **For RiboRuler™ RNA Ladders:**  
Use 0.25 µl of RNA ladder per 1 mm of gel lane width.
  - Mix 2 µl of RNA ladder and 2 µl of the 2X RNA Loading Dye.
  - Heat RNA ladders at 70°C for 10 min.
  - Chill on ice and centrifuge briefly prior to loading onto the gel.
- **For ready-to-use RiboRuler™ RNA Ladders:**  
Use 0.5 µl of ready-to-use RNA ladder per 1 mm of gel lane width.
  - Heat RNA ladders at 70°C for 10 min.
  - Chill on ice and centrifuge briefly prior to loading onto the gel.

**Quality Control**

RiboRuler™ Low Range RNA Ladders are tested on native agarose and polyacrylamide gels.

RiboRuler™ High Range RNA Ladders are tested on native agarose gels.

RNA concentration is determined spectrophotometrically. The absence of ribonucleases is confirmed by appropriate tests.



**Storage and Stability**

Store at -20°C for 6 months, or at -70°C for 24 months.

Ready-to-use RiboRuler™ RNA ladders, premixed with 2X RNA Loading Dye, are stable at +4°C for approximately 2 months.

**Note**

Any RNA, including RiboRuler™ RNA ladders, is extremely sensitive to degradation by ribonucleases. The use of fresh electrophoresis buffer, freshly poured gels, diethyl pyrocarbonate (DEPC)-treated solutions and protective gloves minimizes the possibility of contamination. Gloves are also necessary when solutions containing ethidium bromide are handled.

## 七、生化试剂类

## (一) 剥离硅烷 (Repel-Silane)

货号	品名	英文名	规格	原产地	价格 (元)
A0818	剥离硅烷	Repel-Silane	50ml	Appllichem(Mylab 分装)	150

## 1、【使用说明】

- 1) 浓度: 5%二氯二甲基硅烷 (Dimethyldichlorosilane)
- 2) 成分: 二氯二甲基硅烷, 三氯甲烷
- 3) 规格: 50ml
- 4) 用途: 制备聚丙烯酰胺凝胶时, 可用 Repel-silane 处理小玻板, 使凝胶易于剥离。

## 2、【使用方法】

(测序板和测序胶的制备、PEAG 胶玻璃板处理)

测序用玻璃板必须彻底洗净。先用温水和洗涤剂洗净, 用水洗掉洗涤剂, 再用去离子水冲洗干净。最后用乙醇洗板。

短玻璃板的处理: 每次铺胶前均需用剥离硅烷对短玻璃进行硅化处理。

- 1) 处理短玻璃板前先更换手套, 以防与亲和硅烷交叉污染。
- 2) 用镜头纸蘸取剥离硅烷溶液适量 (1.5ml 左右), 涂在短玻璃板上。要将整块板都涂满、涂匀。
- 3) 5-10 分钟后, 用干净镜头纸擦去多余的剥离硅烷。

## 3、【注意事项】

- 1) 本品不可用于硅化玻璃器皿。如需硅化玻璃皿, 应采用二氯二甲基硅烷原液。
- 2) 气温低时, 剥离硅烷有时会析出, 洗板时会造成粘胶现象, 因此当室内温度低于 20°C 时, 要首先将剥离硅烷预热到 30-40°C, 玻璃用吹风机吹热才开始涂板。
- 3) 若需去硅化处理, 可用强碱浸泡玻璃板, 然后用大量水冲洗。

## (二) 亲和硅烷 (Binding Silane)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
A3797	亲和硅烷 Binding Silane	25ml	Appllichem(Mylab 分装)	150

## 1、【使用说明】

- 1) 浓度: x%3-Methacryloxypropyltrimethoxysilane (Silane A174)
- 2) 成分: SilaneA174, 乙醇, 醋酸
- 3) 规格: 25ml
- 4) 用途: 制备聚丙烯酰胺凝胶时, 可用 Binding Silane 处理长玻板, 使凝胶不易于剥离。

## 2、【使用方法】

(测序板和测序胶的制备、PEAG 胶玻璃板处理)

测序用玻璃板必须彻底洗净。先用温水和洗涤剂洗净, 用水洗掉洗涤剂, 再用去离子水冲洗干净。最后用乙醇洗板。

长玻璃板的处理: 每次铺胶前均需用剥离硅烷对长玻璃进行硅化处理。

- 1) 用镜头纸蘸取亲和硅烷溶液少许 (1ml 左右), 涂在长玻璃板上。要将整块板都涂满、涂匀。
- 2) 4-5 分钟后, 用 95%乙醇洗长玻璃板三次, 以去除多余的亲和硅烷。



### (三) 糖原 Glycogen

产品编号	产品名称	规格	价格
A2168	Glycogen(20mg/ml)	200 $\mu$ l	180 元
A2168	Glycogen(20mg/ml)	500 $\mu$ l	299 元

#### 1、【特点】

本产品为分子生物学级 Glycogen(糖原), 不含 DNase, 不含 RNase, 可以用作沉淀 DNA 或 RNA 的辅助沉淀剂 (used as a carrier, for the precipitation of DNA or RNA)。Glycogen 源于德国 Applichem 公司。

作为 DNA 或 RNA 的辅助沉淀剂, 大多数情况下 glycogen 比 tRNA 或超声处理过的 DNA 效果更好。由于 glycogen 中不含 DNA 和 RNA, 因此, 用 glycogen 作为辅助沉淀剂沉淀下来的核酸更适合于后续的 PCR、RT-PCR 以及内切酶等核酸酶反应。而 tRNA 或超声处理过的 DNA 作为辅助沉淀剂有时会干扰 PCR、RT-PCR 以及内切酶等核酸酶反应。

据文献报道, 连接反应产物用 glycogen 沉淀后对于后续的细菌转化没有干扰, 0.001mg/ml glycogen 不会抑制 TdT, 浓度不大于 2mg/ml 的 glycogen 不会影响反转录酶的活力, 0.02mg/ml glycogen 不会抑制 T4 RNA ligase。Glycogen 会干扰 DNA 和蛋白的相互作用。

通常 1 微升 Glycogen(20mg/ml)即可把少至皮克(pg)级的 DNA 或 RNA 从 1 毫升的溶液体系中沉淀出来。

#### 2、【保存条件】

-20 $^{\circ}$ C 保存, 至少一年有效。

#### 3、【注意事项】

通常每个样品加入 1 微升 Glycogen(20mg/ml)即可, 对于已知糖原可能对后续反应有干扰的情况, 可以适当减少糖原用量, 或使用 tRNA 等作为辅助沉淀剂。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 4、【使用说明】

1) 在待沉淀的 DNA 或 RNA 样品中加入 1 $\mu$ l Glycogen(20mg/ml), 混匀。对于特定的实验操作, 糖原的用量可以参考文献或特定的操作说明进行。

2) 根据实验需要采用乙醇或其它方法沉淀 DNA 或 RNA。

3) 加入乙醇等沉淀试剂, 混匀, 12,000g 左右离心 10 分钟, 即可得到核酸和 glycogen 的共沉淀物。如果要求尽量沉淀完全, 在加入乙醇等沉淀试剂并混匀后, 可以-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C冻存数小时或过夜后再离心。

### (四) Mylab® 2 $\times$ SmartHyb 即用型高效基因芯片杂交液

产品编号	产品名称	规格	价格
SH-01	Mylab® 2 $\times$ SmartHyb	1ml; 100T	100 元
SH-02	Mylab® 2 $\times$ SmartHyb	5ml; 500T	425 元
SH-03	Mylab® 2 $\times$ SmartHyb	10ml; 1000T	700 元

#### 1、【特点】

本产品是非常方便的即用型基因芯片杂交试剂, 以 2 $\times$ SmartHyb 溶液的形式提供, 只需加入 PCR 产物或/和检测探针即可进行芯片杂交反应, 使用十分方便。2 $\times$ SmartHyb 中预混了杂交缓冲盐溶液、去污剂、封闭剂和增强剂等, 可极大的提高基因芯片的杂交信号、有效降低杂交背景和减少杂交信号的变异, 提高实验的稳定性和可重复性。2 $\times$ SmartHyb 对于杂交信号的提高效果显著, 因此, 在用于区分点突变的基因芯片杂交时, 可能对于不完全匹配探针的杂交信号也会有所提高, 尽管这通常不会影响最终杂交结果的判读。

#### 2、【保存条件】

-20 $^{\circ}$ C 保存。

#### 3、【有效期】

>12 个月。

#### 4、【适用范围】

基因芯片的杂交反应, 尤其适用于不用区分点突变的反向杂交 (即标记的 PCR 产物与芯片上的探针杂交)。

#### 5、【使用方法】



使用时只需取适量 2-SmartHyb 溶液，加入 PCR 产物或/和检测探针，使 2-SmartHyb 的浓度为 1× 即可进行杂交反应。

### 6、【反应举例】

注意：以下举例多数情况下可参考。实际反应条件因 PCR 产物和检测探针等的结构不同而各异，需根据实际情况，设定最加反应条件。

以标记的 PCR 产物与芯片上的探针进行反向杂交为例：

1) 可选，对 PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测，确信扩增成功。

2) 准备杂交反应混合物：

取 0.2ml 离心管，冰浴中按下面的量（1 个杂交反应）加入各种反应物，小心混匀：

组份	加量
2×SmartHyb	9 μl
杂交质控探针(可选)	x μl
PCR 产物	9-x μl
终体积	18 μl

3) 将 0.2ml 离心管置于 95°C 保持 5min（最好置于 PCR 仪并使用其热盖功能）。

4) 立即冰浴 3 min。可稍离心收集液滴。

5) 取 13μl 杂交体系加入芯片的探针点阵上。以下操作可按常规进行。

6) 盖上盖片，盖好杂交盒。

7) 将杂交盒置于预热到设定杂交温度的水浴锅中。杂交 90min 以上。

8) 取出芯片，浸入预先配制好的 2×SSC，0.2% SDS 的溶液中，室温摇床轻摇>5min。

9) 将芯片浸入去离子水中，室温摇床轻摇，漂洗 2min。重复 1 次。

10) 晾干或离心甩干芯片。进行芯片扫描，存储结果并分析数据。

### 7、【注意事项】

1) 请勿反复多次冻融本产品，尽可能分装成小份使用。

2) 杂交结果与 PCR 扩增、探针设计、芯片制作、杂交温度、杂交时间、洗涤条件等多因素的影响。本公司提供相关的技术咨询服务。

3) PCR 扩增结果与反应体系、Mg<sup>2+</sup>浓度、引物、循环参数等因素有关。为了减少不必要的优化过程、节省时间和保证试验结果的稳定可重复，推荐使用本公司的 PCR SmartMix。

4) 为了确保实验结果的可靠性，每次 PCR 实验均应设置阴阳性对照，同时设置杂交的空白对照和阳性对照。

5) 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品等用途。



## 第三章 核酸提取与纯化试剂盒

## 一、核酸提取系列

## (一) 通用型 RNA 快速提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	保存	产地
RT01-50	通用型 RNA 快速提取试剂盒	50T	350	室温	MyLab
RT01-100	通用型 RNA 快速提取试剂盒	100T	650	室温	MyLab

## 1、【用途与特点】

- 1) 本试剂盒可用于几乎所有新鲜或液氮保存的动物和植物组织、昆虫等 RNA 的快速提取。通用性好, 对所有组织均使用相同的操作程序。提取物可直接用于 RT-PCR 扩增、核酸杂交等。
- 2) 无须 DNA 酶、RNA 酶抑制剂等, 也无须酚、氯仿等有害化学试剂。安全无毒;
- 3) 所需样品量少, 并且可根据起始材料的多少自行调整。
- 4) 操作简便, 整个过程<40min。无须低温离心。
- 5) 提取的 RNA 纯度高, 下游实验一般不需要其它处理。

## 2、【组成及保存条件】

编号	组份名称	规格	数量	保存
1	溶液 I	37.5ml/75ml	1	常温保存
2	溶液 II	12.5ml/25ml	1	常温保存

## 3、【操作步骤】

## 1) 准备工作

溶液 I 低温后可有沉淀, 使用前请检查。如果有沉淀, 须在 65℃ 水浴中加热使沉淀彻底溶解 (5 分钟以内)。

## 2) RNA 提取

## ① 材料准备:

动物/植物组织、昆虫: 称取 25mg 液氮冷冻或新鲜的组织, 放入存有液氮的研钵里 (推荐用直径 6cm 的研钵), 立即研磨至粉状 (在研磨过程中研钵内最好始终保持有液氮)。研好后直接向此研钵内加入 750 μl 溶液 I (加入溶液 I 前最好向研钵内再加入半研钵体积的液氮, 那样溶液 I 会立即冻成冰球, 更容易研磨), 继续将冻成冰球的 I 研磨成粉状。并放置于室温至融化成液态后移入无 RNase 的 1.5ml 离心管 (在研磨成粉状后直到室温融合成液态的过程中不可以再用研磨杵搅动, 不然会产生 DNA 污染)。

② 把上述液体移入 1.5ml 离心管中, 并向其中加入 250 μl 溶液 II (相当于 1/3 体积溶液 I), 盖上管盖。上下轻柔颠倒混匀 10 次 (使二者混匀)。

③ 室温 14000rpm 离心 3min。蛋白质和 DNA 等杂质被沉淀下来。小心移取上清液约 650 μl (注意不要吸到下面的沉淀) 到另一无 RNase 的 1.5ml 离心管中。

④ 向离心管中加入等体积的异丙醇 (约 650 μl), 上下轻柔颠倒 50 次, -20℃ 放置 5 min (如果提取的为小 RNA 则放置时间延长至 30min), 然后室温 14000 rpm 离心 3min, 倒掉上清, 注意不要触到沉淀。

⑤ 加入 1ml 的 75%乙醇, 室温 14000rpm 离心 1min, 去上清。

⑥ 瞬时离心, 用 200 μl (或 10 μl) 的枪头小心吸去离心管底的残存液态。

⑦ 把离心管放置于超净台晾至约 5 分钟 (勿完全干燥)。加入 30~50 μl 的无 RNase 的水。振荡 30sec, 瞬时离心。电泳如有 DNA 污染请用 DNaseI 去除。

⑧ 将提取的 RNA 立即进行下游实验, 或放 -20℃ 保存。



## (二) RNA 快速提取试剂盒系列

产品编号	产品名称	起始样品量	规格	价格(元)
RT02-50	肌肉组织 RNA 快速提取试剂盒	5~25mg	50T	450
RT02-100	肌肉组织 RNA 快速提取试剂盒	5~25mg	100T	750
RT03-50	脂肪组织 RNA 快速提取试剂盒	10~25mg	50T	450
RT03-100	脂肪组织 RNA 快速提取试剂盒	10~25mg	100T	750
RT04-50	神经组织 RNA 快速提取试剂盒	5~20mg	50T	450
RT04-100	神经组织 RNA 快速提取试剂盒	5~20mg	100T	750
RT05-50	昆虫 RNA 快速提取试剂盒	5~20mg	50T	350
RT05-100	昆虫 RNA 快速提取试剂盒	5~20mg	100T	450
RT06-50	植物 RNA 快速提取试剂盒	15~25mg	50T	350
RT06-100	植物 RNA 快速提取试剂盒	15~25mg	100T	450
RT07-50	血液总 RNA 提取试剂盒	见说明	50T	780
RT08-50	酵母菌总 RNA 提取试剂盒	见说明	50T	980

## 【操作步骤】

## 1) 准备工作

溶液 I 在放置后如有沉淀, 使用前须在 65℃ 水浴中加热, 使沉淀彻底溶解。

## 2) RNA 提取

## ① 材料准备:

称取相应重量的样品液氮冷冻或新鲜组织, 放入用液氮冰冻过的研钵里, 立即研磨至粉状(研磨中使研钵内的样品处于液氮保护状态); 向其中加入 750 $\mu$ l 溶液 I (溶液 I 会迅速被研钵内的液氮冷冻成冰); 继续研磨, 直到成为均匀的粉状; 室温放置至形成均一相液体; 移入无 RNase 的 1.5ml 离心管。

② 向其中加入 250 $\mu$ l 溶液 II (相当于 1/3 体积溶液 I), 盖上管盖。

③ 上下轻柔颠倒混匀 10 次。

④ 室温 14000rpm 离心 3~5min (起始材料越多, 离心的时间应稍长)。蛋白质和 DNA 等杂质被沉淀下来。小心移取上清液约 600~650 $\mu$ l (注意不要吸到上面的泡沫和下面的沉淀, 可以先把离心管倾斜, 把枪头贴离心管壁插入上清液) 移入另一无 RNase 的 1.5ml 离心管中。

⑤ 向离心管中加入 650 $\mu$ l 的异丙醇, 上下轻柔颠倒 50 次, 14000 rpm 离心 3min, 去上清, 注意不要触到沉淀。

⑥ 加入 750 $\mu$ l 的 75%乙醇, 上下颠倒 10 次。室温 14000rpm 离心 1min, 去上清。

⑦ 瞬时离心, 用移液器小心吸去残留的液体 (勿吸到管底的沉淀)。

⑧ 在超净台晾至约 5-10 分钟 (勿完全干燥, 否则很难溶)。加入 40~100 $\mu$ l 的无 RNase 的水, 静止 1min 后, 振荡 30sec, 稍离心。

⑨ 将提取的 RNA 立即进行下游实验, 或放 -70℃ 保存。

## (三) 革兰氏阴性菌(G-)-RNA 快速提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	保存	产地
RT07-50	通用型 RNA 快速提取试剂盒	50T	400	室温	MyLab
RT07-100	通用型 RNA 快速提取试剂盒	100T	700	室温	MyLab

## 1、【用途与特点】

- 1) 本试剂盒可用于革兰氏阴性细菌 RNA 的快速提取。通用性好。提取物可直接用于 RT-PCR 扩增、核酸杂交等。
- 2) 无须 DNA 酶、RNA 酶抑制剂等, 也无须酚、氯仿等有害化学试剂。安全无毒。
- 3) 所需样品量少, 并且可根据起始材料的多少自行调整。
- 4) 操作简便, 整个过程 < 40min。无须低温离心。
- 5) 提取的 RNA 纯度高, 下游实验一般不需要其它处理。



## 2、【组成及保存条件】

编号	组份名称	规格	数量	保存
1	溶液 I	37.5ml/75ml	1	常温保存, 长期 4℃
2	溶液 II	12.5ml/25ml	1	常温保存, 长期 4℃

## 3、【操作步骤】

## 1) 准备工作

准备 65℃ 水浴和冰水浴。

溶液 I 在放置后可有沉淀, 使用前须在 65℃ 水浴中加热使沉淀彻底溶解。

## 2) RNA 提取

- ① 如果一次操作多管, 请将离心管置于冰水浴。无 RNase 的 1.5ml 离心管中, 加入过夜培养的新鲜革兰氏阴性细菌菌液 1.2ml (约  $1.2 \times 10^9$  个细菌)。14000rpm 离心 5~10sec, 彻底去上清。
- ② 加入 750 $\mu$ l 溶液 I, 用枪头反复吹打 5 次完全重悬细胞, 勿剧烈;
- ③ 65℃ 水浴 5min。冷却至室温。
- ④ 向其中加入 250 $\mu$ l 溶液 II (相当于 1/3 体积溶液 I), 盖上管盖。
- ⑤ 上下轻柔颠倒混匀 10 次, 冰水浴 5min。
- ⑥ 室温 14000rpm 离心 3~5min (起始材料越多, 离心的时间应稍长, 离心时间如延长, 可在 4℃ 低温离心, 下同)。蛋白质和 DNA 等杂质被沉淀下来。小心移取上清液约 650~700 $\mu$ l (注意不要吸到上面的泡沫和下面的沉淀), 入另一无 RNase 的 1.5ml 离心管中。
- ⑦ 向离心管中加入 750 $\mu$ l 异丙醇 (相当于 1/1 体积溶液 I), 上下轻柔颠倒 50 次, 14000 rpm 离心 3~5min, 去上清, 注意不要触到沉淀。
- ⑧ 加入 750 $\mu$ l 的 75%乙醇, 振荡 30 秒。室温 14000rpm 离心 1min, 去上清。
- ⑨ 在超净台晾至约 15 分钟 (勿完全干燥, 否则很难溶)。加入 40~100 $\mu$ l 的无 RNase 的水。振荡 30sec, 稍离心。低温溶解 15min。
- ⑩ 将提取的 RNA 立即进行下游实验, 或放 -70℃ 保存。

## (四) 细菌/真菌 DNA 快速提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格	价格(元)	产地
R002-50	细菌/真菌 DNA 快速提取试剂盒	50T	400	MyLab
R002-100	细菌/真菌 DNA 快速提取试剂盒	100T	750	MyLab

## 1、【用途与特点】

1) 本试剂盒可用于几乎所有细菌 (包括 G+/分支杆菌和 G-等) 或真菌的核酸快速提取。通用性好, 对所有细菌均使用相同的操作程序。提取物可直接用于 PCR 扩增, 包括长片段和多重 PCR 扩增等。

2) 无须溶菌酶、溶葡萄球菌素或蛋白酶 K 等酶制剂, 也无须酚、氯仿等有害化学试剂。3. 简单两步操作, 方便快捷, 单份样品的操作时间 < 15 min。4. 灵敏度高, 重现性好。低至 103cfu 的葡萄球菌, 用本试剂盒处理后, 取 1 $\mu$ l 裂解液做模板进行 PCR, 能成功地稳定扩增出靶基因。

## 2、【组成及保存条件】

编号	组份名称	规格	数量	保存
1	Extraction Tube(核酸提取管)	1 管/份样品	50/100 管	4℃, 长期-20℃
2	Lysis Buffer 裂解缓冲液	50 $\mu$ l/份样品	2.5/5ml	4℃, 长期-20℃

## 3、【操作步骤】

## 1) 准备工作

- ① 细菌培养。平板分离培养至肉眼可见单菌落, 或肉汤接种培养至对数生长期。
- ② 样品处理前, 将水浴锅中加入适量的水并预热至 95℃。
- ③ 根据待检测样品数目, 准备相应数量的核酸提取管, 短暂离心并编号。

## 2) DNA 提取



- ① 对平板上培养的细菌：将镊子在火焰上灭菌并冷却后，夹取无菌的牙签或 Tip 头，从培养细菌的平板上沾取单菌落，在核酸提取管底反复摩擦使其尽可能完全留在管中，加入 50  $\mu\text{l}$  的裂解缓冲液。盖好管盖；
- ② 对过夜肉汤培养的菌液：取 1ml 10,000rpm 离心 2min，弃上清，加入 50  $\mu\text{l}$  的裂解缓冲液悬浮，全部转移到核酸提取管中。盖好管盖。
- ③ 对其他来源的菌液（如痰液、尿液等标本、土壤等环境微生物、肠道等微生物群落，先用合适的方法处理）：用适量的缓冲液重悬细菌，10,000rpm 离心 2min，弃上清，加入 50  $\mu\text{l}$  的裂解缓冲液悬浮，全部转移到核酸提取管中。盖好管盖。
- ④ 对细菌含量较少的标本（如拭子等）：将拭子直接伸入核酸提取管液面中，反复搅动，沿管壁小心挤干拭子上的液体。
  - a) 将核酸提取管在涡旋混匀器上最大强度（2800rpm）持续振荡 5 min。
  - b) 将核酸提取管置 95 $^{\circ}\text{C}$  水浴 5 min，置 4 $^{\circ}\text{C}$  备用，或 -20 $^{\circ}\text{C}$  长期保存。

## 二、质粒提取试剂盒

### （一）质粒小提试剂盒（离心柱型）

产品编号	产品名称	规格	产地	价格（元）
ZT01-100	质粒小提试剂盒（离心柱型）	100T	MyLab	180

#### 【产品简介】

本试剂盒采用碱裂解法裂解细菌，再通过离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA。以下操作步骤适用于从1-5 ml过夜培养的大肠杆菌LB (Luria-Bertani) 培养液中，快速提取多至40  $\mu\text{g}$  纯净的高拷贝质粒DNA。

使用本试剂盒提取的质粒 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接、转化、文库筛选、体外翻译、转染一些常规的传代细胞等。

### （二）高纯度质粒小提试剂盒（离心柱型）

产品编号	产品名称	规格	产地	价格（元）
ZT02-50	高纯度质粒小提试剂盒（离心柱型）	50T	MyLab	400

#### 【产品简介】

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞，再通过离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA。由于增加了过滤柱，与普通的提取方法相比，本试剂盒可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物，可从1-5 ml大肠杆菌LB (Luria-Bertani) 培养液中，快速提取多至40  $\mu\text{g}$  高纯度的高拷贝质粒DNA，提取率达85-90%。

使用本试剂盒提取的质粒 DNA 可适用于转染多种细胞及各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接等实验。

### （三）质粒小提中量试剂盒（离心柱型）

产品编号	产品名称	规格	产地	价格（元）
ZT03-50	质粒小提中量试剂盒（离心柱型）	50T	MyLab	500

#### 【产品简介】

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞，再通过离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。从5-15ml大肠杆菌LB((Luria-Bertani)培养液中，可快速提取近70  $\mu\text{g}$  纯净的高拷贝质粒DNA，提取率达85-90%。

使用本试剂盒提取的质粒 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接和转化等实验。

### （四）高纯度质粒大提试剂盒（溶液型）



产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
ZT04-10	高纯度质粒大提试剂盒(溶液型)	10T	MyLab	750

**【产品简介】**

本试剂盒采用独特的缓冲系统, 结合传统的异丙醇沉淀方法, 可快速地获得大量高纯度的质粒 DNA。使用本试剂盒提取的质粒 DNA 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、测序、连接、转化和转染多种细胞等实验。

推荐每次菌液使用量: 高拷贝质粒推荐使用量为 100ml, 得率一般在 0.5mg~1.5mg 左右; 低拷贝质粒推荐使用量为 200ml, 得率一般在 200~400 $\mu$ g 左右。

**(五) 无内毒素质粒小提试剂盒(离心柱型)**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
ZT05-50	无内毒素质粒小提试剂盒(离心柱型)	50T	MyLab	380

**【产品简介】**

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞, 再通过离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的 DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料, 高效、专一吸附 DNA, 配以特制溶液, 可最大限度去除杂质蛋白、有机化合物和痕量核酸酶等。从 1-5 ml 大肠杆菌 LB(Luria-Bertani)培养液中, 可快速提取近 15-40  $\mu$ g 纯净的高拷贝质粒 DNA, 可配合高精度实验。

使用本试剂盒提取的质粒 DNA 纯度高, 无内毒素、核酸酶及其他杂质。主要用于动物细胞的转染, 还可用于其它分子生物学实验, 如酶切、转化、测序、文库筛选、连接和转化等。

**三、DNA 产物纯化回收试剂盒****(一) PCR 产物纯化试剂盒**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DC01-100	PCR 产物纯化试剂盒	100T	MyLab	240

**【产品简介】**

本试剂盒采用独特的离心吸附柱纯化酶切、PCR 等反应溶液中的 DNA 片段, 同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质。本试剂盒适用于回收 100 bp-40 kb, 起始量为 5-20  $\mu$ g 的 DNA 片段, 回收率可达 80% 以上 (<100 bp 或 >10kb 的 DNA 片段回收率为 30-50%)。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。快速: 整个操作过程只需十几分钟, 节省时间。

多样: 可以回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。

高效: 独特的离心柱和精心配制的缓冲液保证每次最大量回收到高纯度目的 DNA。

**(二) 普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(离心柱型)**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DC02-100	普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(离心柱型)	100T	MyLab	250

**【产品简介】**

本试剂盒采用可以高效、专一结合 DNA 的硅基质材料和独特的缓冲液系统, 从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶上回收 DNA 片段, 同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质。可回收 100 bp-40 kb DNA 片段, 回收率可达 80% 以上 (<100 bp 或 >10kb 的 DNA 片段回收率为 30-50%)。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。快速: 整个操作过程快速方便, 几十分钟即可完成回收工作。

多样: 可以回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。

高效: 独特的离心柱和精心配制的缓冲液, 保证最大量回收到高纯度的目的 DNA。



## (三) 通用型 DNA 纯化回收试剂盒 (离心柱型)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
DC03-100	通用型 DNA 纯化回收试剂盒 (离心柱型)	100T	MyLab	360

## 【产品简介】

本试剂盒采用独特的离心吸附柱,既能从TAE或TBE琼脂糖凝胶中回收DNA片段,又能用于直接纯化PCR产物,满足多种实验需要。溶液PC中含有pH指示剂,可根据颜色来判断溶胶或PCR产物回收是否达到最佳状态。使用本产品可回收100 bp~8 kb大小的DNA片段,回收率可达80%(100bp~8Kb),大于8kb 的DNA片段纯化建议使用我公司的琼脂糖凝胶回收试剂盒DP208/209或DNA产物纯化试剂盒DP303/304。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

## 四、基因组 DNA 提取试剂盒

## (一) 动物组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
DT01-50	Taq DNA Polymerase (含镁离子)	50T	MyLab	380

## 【产品简介】

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,能够高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

## (二) 细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
DT02-50	细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)	50T	MyLab	450

## 【产品简介】

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统提取细菌的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,能够高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

提取得率:

材料	提取量	DNA 得量
细菌培养液	$10^6$ – $10^8$ cells	5–20 $\mu$ g

## (三) 血液基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
DT03-50	血液基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)	50T	MyLab	380

## 【产品简介】

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,提取血液中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。使用本试剂盒回收的DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

提取得率:

材料	提取量	DNA 得量
哺乳动物全血	100 $\mu$ l–1 ml	3–30 $\mu$ g
禽类、两栖类全血	5–20 $\mu$ l	5–40 $\mu$ g



## (四) 植物基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
DT04-50	植物基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)	50T	MyLab	380

## 【产品简介】

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,提取多种植物组织中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

## (五) 病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒 (离心柱型)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
DT05-50	病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒 (离心柱型)	50T	MyLab	890

## 【产品简介】

本试剂盒采用可以特异性结合病毒 DNA/RNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,适用于从200 $\mu$ l 血浆/血清/淋巴液中提取病毒的DNA/RNA,该试剂盒配备了Carrier RNA 用于充分收集微量DNA/RNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,高效、专一吸附DNA/RNA,可最大限度去除杂质蛋白等。提取的病毒DNA/RNA 纯度高,质量稳定可靠,可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

## (六) 酵母基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
DT06-50	酵母基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)	50T	MyLab	500

## 【产品简介】

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,用于提取酵母细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。  
菌体浓度检测

可采用分光光度计或平板培养法检测菌体量,一般对于酿酒酵母,OD<sub>600</sub> 值为 1.0 时,相当于  $1-2 \times 10^7$  cells / ml。

## 五、感受态细胞

(一) DH5  $\alpha$  感受态细胞

产品编号	产品名称	规格	产地	价格 (元)
GX01-100	DH5 $\alpha$ 感受态细胞	100 $\times$ 100 $\mu$ l	MyLab	550

## 【产品简介】

本公司生产的 DH5 $\alpha$  感受态细胞是采用大肠杆菌 DH5 $\alpha$  菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞,可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测,转化效率可达  $10^8$ ,  $-70^\circ\text{C}$  保存几个月转化效率不发生改变。

每支感受态可以酌情分装使用,降低了实验的成本。质量稳定,使用方便,质优价廉。

DH5 $\alpha$  菌株的基因型为: F - $\phi$ 80 lacZ $\Delta$ M15 $\Delta$  (lacZYA-argF) U169 end A1 recA1 hsdR17(rk -,mk -) sup E44  $\lambda$ -thi-1 gyrA96 relA1 phoA。

一种用于铺制与培养质粒平板和粘粒平板的重级缺陷的抑制型株。其  $\phi$ 80 lacZ $\Delta$ M15 基因的产物可与 pUC 载体编码的  $\beta$ -半乳糖苷酶氨基端实现  $\alpha$  互补,可用于蓝白斑筛选。



## (二) TOP10 感受态细胞

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
GX02-100	TOP10 感受态细胞	100×100ul	MyLab	550

## 【产品简介】

本公司生产的 TOP10 感受态细胞是采用大肠杆菌 TOP10 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞,可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测,转化效率可达  $10^8$ ,  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存几个月转化效率不发生改变。每支感受态可以酌情分装使用,降低了实验的成本。质量稳定,使用方便,质优价廉。

TOP10 菌株的基因型为:  $F^- \text{mcrA } \Delta(\text{mrr-hsdRMS-mcrBC}) \phi 80 \text{ lacZ}\Delta\text{M15}\Delta \text{ lacX74 recA1 ara}\Delta\text{139}\Delta(\text{ara-leu})7697 \text{ galU galK rpsL}(\text{Star}^r) \text{ endA1 nupG}$ 。

一种用于铺制与培养质粒平板和粘粒平板的重级缺陷的抑制型株。其  $\phi 80 \text{ lacZ}\Delta\text{M15}$  基因的产物可与 pUC 载体编码的  $\beta$ -半乳糖苷酶氨基端实现  $\alpha$  互补,可用于蓝白斑筛选。

## (三) JM109 感受态细胞

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
GX03-50	JM109 感受态细胞	50×100ul	MyLab	550

## 【产品简介】

本公司生产的 JM109 感受态细胞是采用大肠杆菌 JM109 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞,可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测,转化效率可达  $10^6$ ,  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存几个月转化效率不发生改变。每支感受态可以酌情分装使用,降低了实验的成本。质量稳定,使用方便,质优价廉。

JM109 菌株的基因型为:  $\text{endA1 recA1 gyrA96 thi-1 hsdR17}(\text{r}_k^-, \text{m}_k^+) \text{ relA1 supE44 D}(\text{lac-proAB}) [\text{F}'\text{traD36 proAB lacIqZ}\Delta\text{M15}]$ 。

$\text{recA1}$  和  $\text{endA1}$  突变阻止对克隆 DNA 的修饰或对宿主菌染色体 DNA 的重组,提高纯化质粒的产量和质量。使用 pUC19 质粒检测,转化效率高达 108 cfu/ $\mu\text{g}$  以上。

## (四) BL21(DE3)感受态细胞

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
GX04-40	BL21(DE3)感受态细胞	40×100ul	MyLab	500

## 【产品简介】

本公司生产的 BL21(DE3)感受态细胞是采用大肠杆菌 BL21(DE3)菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞,可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测,转化效率可达  $10^8$ ,  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存几个月转化效率不发生改变。每支感受态可以酌情分装使用,降低了实验的成本。质量稳定,使用方便,质优价廉。

BL21(DE3)感受态细胞的基因型为:  $F^- \text{ompT hsdSB}(\text{rB}^- \text{mB}^-) \text{ gal dcm}(\text{DE3})$ 。

该感受态细胞用于以 T7 RNA 聚合酶为表达系统的高效外源基因的蛋白表达宿主。T7 噬菌体 RNA 聚合酶基因的表达受控于  $\lambda$  噬菌体 DE3 区的 lacUV5 启动子,该区域整合于 BL21 的染色体上。该菌适合于非毒性蛋白的表达。

## 六、蛋白相关

## (一) RIPA 裂解液

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DB01-50	RIPA 裂解液	50ml	MyLab	120

## 【产品简介】

RIPA 裂解液(RIPA Lysis Buffer)是一种传统的细胞组织快速裂解液。RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。RIPA 的本意是 Radio Immunoprecipitation Assay。RIPA 裂解液的配方有很多种,本产品 RIPA 裂解液的主要成分为 50mM Tris(pH7.4), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS 以及 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA 等多种磷酸酶抑制剂。



**(二) BCA 蛋白定量试剂盒**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DB02-50	BCA 蛋白定量试剂盒	1000T	MyLab	790

**【产品简介】**

本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，至少一年内有效。

蛋白标准长期保存-20℃放置，常温运输。

BCA(bicinchoninic acid)法蛋白浓度定量试剂盒是在世界上常用的蛋白浓度检测方法之一 BCA 法基础上改进而成。众所周知，二价铜离子在碱性的条件下，可以被蛋白质还原成一价铜离子 (biuret reaction)，一价铜离子和独特的 BCA Solution A (含有 BCA) 相互作用产生敏感的颜色反应。两分子的 BCA 整合一个铜离子，形成紫色的反应复合物。该水溶性的复合物在 562nm 处显示强烈的吸光性，吸光度和蛋白浓度在广泛范围内有良好的线性关系，因此根据吸光值可以推算出蛋白浓度。

- 1) 步骤简单，45 分钟内完成测定，比经典 Lowry 法快 4 倍而且更加方便。
- 2) 灵敏度高，检测浓度下限达到 25ug/ml，最小检测蛋白量达到 0.5ug，待测样品体积为 1-20ul。
- 3) BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的去污剂等化学物质的影响，可以兼容样品中高达 5%的 SDS，5%的 Triton X-100，5%的 Tween 20，60，80。
- 4) 在 20-2000ug/ml 浓度范围内有良好的线性关系。
- 5) 检测不同蛋白质分子的变异系数远小于考马斯亮蓝法蛋白定量。

**(三) Bradford 法蛋白定量试剂盒**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DB03-500	Bradford 法蛋白定量试剂盒	500T	MyLab	200

**【产品简介】**

Bradford 蛋白质定量试剂盒是根据目前世界上最常用的两种蛋白浓度检测方法之一，考马斯亮蓝 G—250 (Coomassie brilliant blue G-250) 法研制而成，实现了蛋白浓度测定的快速，稳定和高灵敏度。其原理是考马斯亮蓝 G—250 在酸性条件下和蛋白质结合，使得染料最大吸收峰从 465nm 变为 595nm，在一定的线性范围内，反应液 595nm 处吸光度的变化量与反应蛋白量成正比，测定 595nm 处吸光度的增加即可进行蛋白定量。本试剂盒含配制好的考马斯亮蓝染液和牛血清白蛋白(BSA)溶液作为蛋白质标准溶液，测定范围为 50μg-1000μg/ml。

**(四) Protein Marker, 10.4KDa - 96.0KDa**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DB04-100	Protein Marker, 10.4KDa - 96.0KDa	100T	MyLab	375

**【产品简介】**

本产品是由 5 种蛋白质分别纯化后混合而成的蛋白质溶液，分子量范围为 10.4 KDa - 96.0 KDa。经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后用考马斯亮蓝 R-250 (Coomassie Blue R-250) 染色可得清晰的 5 条蛋白带。

建议使用分离胶浓度为 12%—15%。

**(五) Protein Marker, 14.4KDa - 116.0KDa**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DB05-100	Protein Marker, 14.4KDa - 116.0KDa	100T	MyLab	375

**【产品简介】**

本产品是由 7 种蛋白质分别纯化后混合而成的蛋白质溶液，分子量范围为 14.4 KDa - 116.0 KDa。经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后用考马斯亮蓝 R-250 (Coomassie Blue R-250) 染色可得清晰的 7 条蛋白带。

建议使用分离胶浓度为 12%—15%。



**(六) TMB 底物显色试剂盒**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DB06-100	TMB 底物显色试剂盒	100ml	MyLab	235

**【产品简介】**

本产品提供了 ELISA 实验中所需的 TMB 底物溶液，内含 A 液和 B 液，等体积混合后即可使用，操作简单。3,3', 5,5'-四甲基联苯胺 (TMB) 是辣根过氧化物酶 (HRP) 的一种新型底物。氧化前 TMB 的最大光吸收在 285nm 处，氧化后的最大光吸收波长是 370nm 和 652nm。建议在 652nm 处测定蓝色光吸收，加酸将使蓝色转变为黄色，可以在 450nm 处测定，450nm 处检测的灵敏度高于 652nm 处。建议底物氧化反应后加 100 $\mu$ l 终止液，使蓝色转变为黄色后在 450nm 处进行测定。

**(七) 蛋白质银染试剂盒**

产品编号	产品名称	规格	产地	价格(元)
DB07-100	Taq DNA Polymerase (含镁离子)	100ml	MyLab	495

**【产品简介】**

本试剂盒用于蛋白质凝胶的染色。银染是比考马斯亮蓝染色更灵敏的一种，它是通过银离子 (Ag<sup>+</sup>) 在蛋白质上被还原成金属银形成黑色来指示蛋白区带的。银染可以直接进行也可以在主要的蛋白条带通过考马斯亮蓝染色分辨，而细小的考马斯亮蓝染色检测不到的蛋白带色后进行凝胶银染检测。银染的灵敏度比考马斯亮蓝染色高100倍，可以检测低于1 ng的蛋白质。

本试剂盒可兼容蛋白质质谱分析。

