



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)

产品编号	产品名称	包装
R32117-1ml	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1 ml

### 产品简介:

源叶生产的 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 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
R32117-1ml	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1 ml
—	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。



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

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：

1. 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。

2. 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。

3. 如下设置 PCR 仪进行退火反应：

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

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

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

注 3：如果条件有限，也可以将水浴锅加热至 95 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 时放入 PCR 管。所用水量控制在 1-2 小时内自然降温至 25 $^{\circ}$ C 左右。此方法的退火效果可能会比使用 PCR 仪略差一些。



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

---

4. 退火结束后可以直接用于连接反应，也可以-20°C 冻存备用。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。

