



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水或重蒸水配制成为50μM。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	40μl
Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	20μl
DNA oligo A (50μM)	20μl
DNA oligo B (50μM)	20μl
总体积	100μl

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, ∞。

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, ∞。

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 γ 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.
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.
10. Tiyu Ding, Sumathi Tomes, Andrew P Gleave, Hengtao Zhang, Andrew P Dare, Blue Plunkett, Richard V Espley, Zhiwei Luo, Ruiping Zhang, Andrew C Allan, Zhe Zhou, Huan Wang, Mengmeng Wu, Haiqing Dong, Chonghuai Liu, Jihong Liu, Zhenli Yan, Jia-Long Yao. microRNA172 targets APETALA2 to regulate flavonoid biosynthesis in apple (*Malus domestica*). *Hortic Res*. 2022 Jan 18;9:uhab007.
11. Xueyang Chen, Xingming Wang, Yuxin Yang, Chun Fang, Jing Liu, Xiongyan Liang, Yuying Yang. Enhanced pathogenicity by up-regulation of A20 after avian leukemia subgroup a virus infection. *Front Vet Sci*. 2022 Nov 14;9:1031480.
12. Liu-Qing Yang, Han-Yin Hu, Yao Han, Ze-Yi Tang, Jie Gao, Qi-Yin Zhou, Yi-Xuan Liu, Hao-Sa Chen, Tu-Nan Xu, Lei Ao, Ying Xu, Xuan Che, Ya-Bo Jiang, Chun-Wei Xu, Xian-Chao Zhang, Yu-Xin Jiang, Michal Heger, Xiao-Min Wang, Shu-Qun Cheng, Wei-Wei Pan. CpG-binding protein CFP1 promotes ovarian cancer cell proliferation by regulating BST2 transcription. *Cancer Gene Ther*. 2022 Dec;29(12):1895-1907.
13. Minggui Lin, Xingyun Liu, Xinhui Zhang, Huimin Wang, Yu Fang, Xiaoting Wu, Anqi Yin, Wanqing Yang, Dong Zhang, Miaomiao Li, Ling Zhang, Songcheng Ying. Sp1 Controls the Basal Level of Interleukin-34 Transcription. *Immunol Invest*. 2023 Feb;52(2):224-240.
14. Jiaxuan Chen, Haitao Chen, Haoming Mai, Shuang Lou, Mengqi Luo, Haisheng Xie, Bin Zhou, Jinlin Hou, De-Ke Jiang. A functional variant of CD40 modulates clearance of hepatitis B virus in hepatocytes via regulation of the ANXA2/CD40/BST2 axis. *Hum Mol Genet*. 2023 Apr 6;32(8):1334-1347.

Version 2024.03.12