

分子生物学实验流程解决方案

Thermo Fisher SCIENTIFIC





# 探索发现分子生物学的奥秘

在分子生物学研究中,您可以通过不同的途径实现您的科研目标。然而这些途径选择往往令人困惑,而且您选择的途径可能会影响实验的过程及能否取得最终成功。

本手册旨在通过提供分子生物学实验流程中的技术信息和明确选择,以帮助您在研究中如鱼得水。Applied Biosystems™和Invitrogen™产品采用了最新的创新技术,可使您在实验室研究中更快获取结果、得到更多保证且只需较少优化。

即刻开始探索发现分子生物学的奥秘,从样品制备到反转录、PCR和克隆。参阅本手册,了解更多在您的研究领域中从样品制备到获得结果的方便途径以及一流研究经验。

更多信息请访问 thermofisher.com/amplifly

## 目录



### 样品制备

概述	7
DNA分离	9
RNA分离	11
Dynabeads磁珠分离	13
自动化平台	16



### 反转录

选择反转录酶考虑因素	19
选择指南	20
基因组DNA去除	21
反转录引物	22



### PCR

PCR仪	25
PCR耗材	28
酶和试剂	30
PCR引物和DNA寡核苷酸	34



### 电泳

概述	37
E-Gel选择	38
电泳试剂	40



### 克隆

分子克隆技术概述	43
限制性内切酶克隆	44
PCR克隆	45
基因合成	47
转化.	48



### 资源

学习资源	52
移动应用程序	53
定制和OEM解决方案	53
常见问题回答	54
订购信息	56



无论您是分离基因组DNA(gDNA)还是RNA,核酸分离都是分子生物学工作流程中至关重要的第一步。从几乎所有样品类型和应用中做出选择,挑选经优化能提供最大产量、纯度和完整性的核酸纯化产品对于您取得研究成功至关重要。

有关核酸分离的技术资源,请访问

## 常见核酸分离方法的优点和基本原理



有机萃取: 酚-氯仿溶液

(例如, Invitrogen™ DNAzol™和TRIzol™试剂)

将样品在含酚的溶液中均化,然后在加入氯仿后离心。在离心过程中,样品分离成三个相:含有RNA的上层水相、中间相以及粉红色的含DNA和蛋白质的有机相。 上层水相中的RNA可通过异丙醇沉淀获得。中间相和有机相的DNA可通过乙醇沉淀获得。苯酚-乙醇上清中的蛋白质可使用异丙醇沉淀获得。

### 优点:

- 细胞和组织有效裂解
- 核酸酶快速变性
- 核酸稳定化
- 非常适合用于富含脂肪和骨骼组织样品



**离心柱:** 柱中的玻璃纤维、硅胶衍生物或离子交换膜(例如, Thermo Scientific™ GeneJET™和Invitrogen™ PureLink™试剂盒)

裂解样品,使用离心或真空力使样品通过膜。随后相继使冲洗和洗脱溶液通过膜,并通过离心或真空抽吸将样品收集至管中。

#### 优点:

- 便捷
- 易于使用
- 通量灵活
- 无需使用特殊仪器设备



磁珠: 0.5-1.0 µm颗粒, 具有顺磁核心和经过修饰的外壳 (例如, Applied Biosystems™ MagMAX™试剂盒)和Invitrogen™ Dynabeads ™磁珠

在溶液中裂解样品,并通过特异性表面修饰使其与磁性颗粒结合。施加外部磁场,快速收集颗粒。经过数轮释放、重悬和重新捕获步骤,分离所需的核酸。

#### 优点:

- 无堵塞风险
- 提高靶标捕获效率
- 快速收集和浓缩样品
- 兼容自动化核酸提取仪器
- 规模可扩展

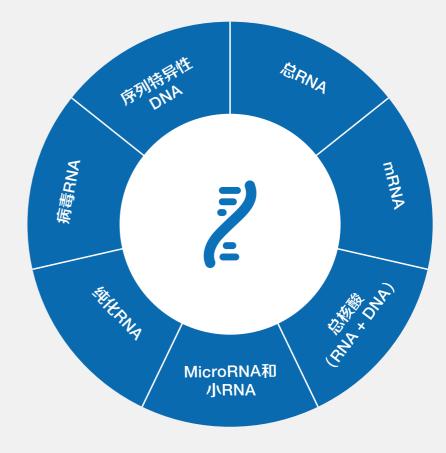
详情请访问 thermofisher.com/sampleprep

## 成功进行核酸分离的工具



DNA类型

用于基因组DNA提取、质粒分离和DNA纯化



RNA类型

用于纯化总RNA、转录组RNA、信使RNA(mRNA)、microRNA(miRNA)和 其他小RNA,以及序列特异性RNA

## 选择正确的DNA分离试剂盒

为满足您特定的DNA分离需求,我们提供全面的产品组合,涵盖三种极其先进的纯化技术: 硅胶膜、阴离子交换树脂和可切换的表面电荷。请参阅下表确定适合您的DNA类型和样品类型的纯化试剂盒。如需使用我们的在线试剂盒选择指南,请访问 thermofisher.com/dnaselection

### 用于基因组DNA分离的Applied Biosystems™和Invitrogen™技术

通量/形式	低通量或手动(有机)	中通量和离心柱技术	高通量和96孔过滤板	高通量和磁珠技术
试剂盒	DNAzol试剂	PureLink试剂盒	PureLink Pro 基因组DNA试剂盒	MagMAX DNA试剂盒
组织	DNAzol试剂	PureLink基因组DNA 小量提取试剂盒	PureLink <i>Pro</i> 96基因组 DNA纯化试剂盒	MagMAX DNA 多样品试剂盒
细胞	DNAzol试剂	PureLink基因组DNA 小量提取试剂盒	PureLink <i>Pro</i> 96基因组 DNA纯化试剂盒	MagMAX DNA 多样品试剂盒
血液	DNAzol BD试剂	PureLink基因组DNA 小量提取试剂盒	PureLink <i>Pro</i> 96基因组 DNA纯化试剂盒	MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0试剂盒
植物	植物DNAzol试剂	PureLink植物基因组DNA 纯化试剂盒	PureLink <i>Pro</i> 96基因组 DNA纯化试剂盒	MagMAX植物DNA 分离试剂盒
口腔拭子	不推荐	PureLink基因组DNA 小量提取试剂盒	PureLink <i>Pro</i> 96基因组 DNA纯化试剂盒	MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0试剂盒
细菌	DNAzol试剂	PureLink微生物组DNA 纯化试剂盒	PureLink <i>Pro</i> 96基因组 DNA纯化试剂盒	MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0试剂 盒, Dynabeads MyOne 链霉亲 和素产品
病毒	不推荐	PureLink病毒RNA/DNA 小量提取试剂盒	PureLink <i>Pro</i> 96病毒 RNA/DNA纯化试剂盒	MagMAX 病毒核酸试剂盒, Dynabeads MyOne 链霉亲和素产品
兼容性				
可扩展和可自动化			•	•
KingFisher仪器				•
qPCR	•	•	•	•
NGS	•	•	•	•

### 详情请访问 thermofisher.com/gdnaprep

## 选择正确的DNA纯化试剂盒(接上页)

### DNA纯化方案比较

DNA纯化应用	PCR产物纯化	PCR产物纯化	PCR产物纯化	胶纯化	PCR产物纯化和胶纯化	PCR产物纯化	
试剂盒	PureLink PCR纯 化试剂盒	PureLink Pro 96 PCR纯化试剂盒	PureLink PCR Micro试剂盒	PureLink快速凝胶 回收试剂盒	PureLink快速凝胶回收和 PCR纯化组合试剂盒	ChargeSwitch-Pro PCR纯化试剂盒	Centri-Sep离心柱
分离方法	硅胶离心/真空柱	96孔硅胶板	硅胶离心柱	硅胶离心柱/真空柱	硅胶离心柱/真空柱	衍生化离心/真空柱	离心柱
产品规格	50次制备 250次制备	4块板 (4X96次反应)	10次制备 50次制备 250次制备	50次制备 250次制备	50次制备	10次制备 50次制备 250次制备	• 100 只离心柱 • 32 只离心柱
时间	<15 min	20 min	≤10 min	<30 min	10-30 min	<10 min	<5 min
洗脱体积	50 μL	50-150 μL	5-20 µL	30-100 μL	30–100 μL	50 μL	20 μL
回收率	>80%	>70%	>80%	高达95%	胶纯化:>80% PCR产物纯化: >95%	NA	NA
引物移除率	>99%	NA	>95%	NA	>99%	NA	>98%

### 用于质粒DNA分离的Thermo Scientific™和Invitrogen™技术

纯化级别	分子实验级	转染级	转染级	高级转染级
试剂盒	GeneJET试剂盒	PureLink HiPure试剂盒	PureLink快速低内毒素试剂盒	PureLink Expi无内毒素试剂盒
内毒素水平	标准(1-10 EU/µg)	低内毒素 (0.1-1 EU/µg)	低内毒素 (0.1-1 EU/μg)	无内毒素 (<0.1 EU/μg)
产量	20 μg–1 mg	20 μg–15 mg	0.4 mg(中提)、1.5 mg(大提)	1.5–15 mg
技术	硅胶膜	阴离子交换(树脂)	高级硅胶膜	阴离子交换(膜)
实验总时间	15-60 min	30-120 min	30 min	90-120 min
制备规格	小提、中提和大提	小提、中提、大提和宏量提取	中提和大提	大提、超大量提取和宏量提取
下游应用	• PCR	● 标准转染	• 标准转染	• 原代细胞和干细胞转染
	• 核酸标记	• 所有分子生物学应用	• 特定敏感细胞系的转染	• 基因治疗和疫苗(体内)研究
	• 克隆(酶切、连接)	• 体外转染		• 显微注射
	● 测序			• 所有分子生物学应用

## 选择正确的RNA分离试剂盒

为了获得您要求的质量和性能,我们提供了一整套用于RNA分离的产品,适用于各种样品类型、通量和输入量。如需使用我们的在线试剂盒选择指南,请访问 thermofisher.com/rnaselection

### 用于总RNA分离的Applied Biosystems™和Invitrogen™技术

功能	处理大量组织	快速从多种样品中分离RNA	RNA和DNA的高通量纯化	处理细胞用于基因表达
试剂盒	TRIzol试剂	PureLink试剂盒	MagMAX试剂盒	Cells-to-C <sub>⊤</sub> 试剂盒
制备时间	60 min	<20 min	45 min	≤10 min
样品类型	适用大多数样品类型, 特别是那些 更难裂解的样品	细菌、液体、血液、细胞、酵母、植物、组织	细胞、血液、植物	经培养的细胞
起始材料	100 mg组织或10 <sup>7</sup> 个细胞	10°个细胞、200 mg组织、 250 mg植物组织、0.2 mL血液、5 × 10°个 酵母菌、10°个细菌	100 mg组织或5× 10 <sup>6</sup> 个细胞	1-100,000个细胞
产量	10 <sup>6</sup> 个上皮细胞: 8–15 μg 100 mg烟草叶: 73 μg (根据样品而有所不同)	高达350 µg	根据样品而有所不同	不适用
高通量兼容		•	•	•
技术	有机萃取	硅胶膜离心柱/过滤板	磁珠	粗裂解物



### 实用技巧

如果您尚未准备处理RNA样品,只需将其储存在Invitrogen™ RNAlater™稳定溶液中,以备以后使用。可访问thermofisher. com/stabilizerna了解相关信息





## Invitrogen RiboMinus Bacteria 2.0转录组分离试剂盒

磁珠法分离,满足你所需要的准确性和一致性

Invitrogen RiboMinus Bacteria 2.0转录组分离试剂盒可以通过有效富集细菌转录组来改善RNA测序结果该试剂盒设计并包含了针对 5s靶标在内的100多种探针,让剩余核糖体reads 数小于 20%。通过基于探针的方法去除总细菌RNA中的核糖体 RNA,实现对更多靶标RNA进行测序。



### RiboMinus试剂盒的特点:

- 全面的 RNA 去除
- 与 Thermo Scientific™ KingFisher™ 仪器兼容的磁珠技术
- 适用于多个种类的 RNA
- 能代表更多的 RNA 转录本种类

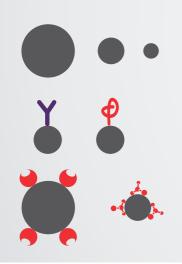
了解更多技术及产品信息请访问 thermofisher.com/ribominusbacteria

## Invitrogen Dynabeads 磁珠

### Dynabeads磁珠的多样性

对于Dynabeads产品,有两个主要考虑因素——磁珠大小和涂层。多种经优化

的即用型Dynabeads磁珠,可用于各种应用;另外,也可以选择使用您自有的抗体、寡核苷酸或其他配体来轻松制备磁珠。



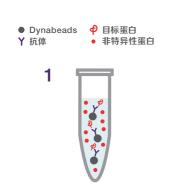
**大小**: Dynabeads磁珠的大小包括4.5、2.8或1.0 μm, 适用于不同应用。通常, 较大的磁珠适用于完整细胞的分离与扩增。较小的磁珠适用于蛋白和核酸等分子。

**特异性**: 为捕获特定的细胞或分子,可购买已与抗体或protein G等分子偶联的Dynabeads产品。磁珠也可以作为试剂盒的一部分包含在其中。

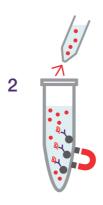
灵活性:链霉亲和素包被或表面活化的磁珠可用于定制用于您感兴趣分子的磁珠。

### Dynabeads磁珠工作原理

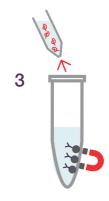
Dynabeads磁珠分离方案一般包括三个简单步骤。样品处理时无需离心步骤或分离柱,该方案可在Thermo Scientific™ KingFisher™仪器上实现自动化。



1. 结合: Dynabeads磁珠与预期靶标结合(如细胞、微生物、核酸、多肽、蛋白、蛋白复合物等)。在图示的实例中,磁珠表面偶联一个抗体。



2. 洗涤: 磁珠对磁场产生反应, 使得结合预期 靶标的磁珠能够快速、有效地聚集到磁力 架上, 使其与样品中的其余物质分离。未结 合的分子则留在上清液中, 通过简单的移 液就可以去除。



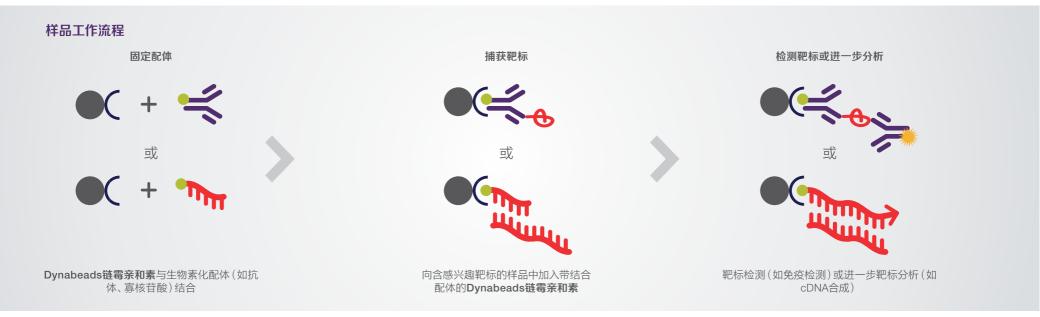
3. 洗脱: 根据下游应用需求,使用适合的洗脱体积将预期靶标从磁珠上释放和洗脱下来,用于下游应用。或者,可以使用结合预期靶标的磁珠直接进行后续操作。

## Dynabeads链霉亲和素

使用Invitrogen™ Dynabeads™链霉亲和素与生物素化的抗体、寡核苷酸等结合后。这些"包被的"磁珠可用于捕获或纯化任何感兴趣的生物分子。亲和素-生物素复合物是蛋白质和配体之间已知最强的非共价相互作用(Kd = 10<sup>-15</sup> M)。它们可以非常快速的结合,一旦形成复合物,不受pH、温度、有机溶剂和其他变性剂这些极端情况的影响。

Dynabeads链霉亲和素在涉及多种应用的30,000多篇同行评审的论文和出版物中被引用,如:

- 蛋白和多肽分离
- 核酸纯化和二代测序(NGS)工作流程
- 细胞分离
- 外泌体分离



Dynabeads链霉亲和素是使用序列特异性探针从临床样品 (如血液、粪便和脑脊液) 中捕获低丰度DNA和RNA的理想物质。该方法具有多个优点,包括去除无关的DNA、RNA和抑制物质,以及将珍贵的靶标浓缩成小体积,以供进一步分析。NGS工作流程中,Dynabeads链霉亲和素的应用非常普遍,被用于多个关键步骤。

#### 主要优点

- 无需离心、沉淀或分离柱
- 极佳的反应动力学
- 优秀的机械和化学稳定性
- 降低差异性、增加一致性
- 可实现生物素化DNA、RNA、蛋白质或细胞分离的自动化

了解更多技术及产品信息请访问 thermofisher.com/streptavidinbeads

## 磁力架

通过使用强效的Invitrogen™ DynaMag™磁力架缩短了等待时间,从而使与靶标结合的磁珠快速吸附至试管壁。这些磁力架能够确保磁珠吸附于最佳位置,功能可经调整以适用于您的实验流程。

### 主要优点

- 经过认证可与任何类型的Dynabeads产品配合使用
- 灵活巧妙的人体工程学设计
- 磁力架种类多可用于大部分工作体积

#### 计购信息

订购信息		
货号	产品	规格
分子应用		
12320D	DynaMag-Spin Magnet	<ul> <li>适用于6个标准1.5ml ~ 2ml离心管</li> <li>推荐容纳体积: 10 ~ 1000 μl/管</li> <li>圆形的顶架可以从磁力架上去除, 便于涡旋和手工样本摇动</li> </ul>
12321D	DynaMag-2 Magnet	<ul> <li>适用于16个标准1.5~2 ml离心管</li> <li>推荐容纳体积: 10~2,000 μL</li> <li>试管架的中心轴可确保所有试管具有相同的涡旋混合效果。</li> </ul>
12322D	SampleRack (for DynaMag-2 magnet)	<ul><li>SampleRack可以轻松单独从架子上拿下来</li><li>SampleRack可单独购买</li></ul>
12331D	DynaMag-96 Side Magnet	<ul> <li>适用于标准200 µL PCR管, 8连管, 12连管, 96孔板(半裙边, 无裙边)</li> <li>推荐容纳体积: 5~200 µL</li> <li>用于在管侧面收集磁珠</li> <li>用于手工或者自动化方案均可</li> </ul>
12332D	DynaMag-96 Bottom Magnet	<ul> <li>适用于标准200 µL PCR管, 8连管, 12连管, 96孔板(半裙边, 无裙边)</li> <li>推荐容纳体积: 5 ~ 200 µL</li> <li>用于在管底部收磁珠</li> <li>用于手工或者自动化方案均可</li> </ul>
细胞应用		
12303D	DynaMag-5 Magnet	
12304D	SampleRack (for DynaMag-5)	适用于8个标准流式管或大部分采血管     具有灵活夹槽,适用于管直径约为11mm ~ 16 mm,不推荐使用15ml离心管     推荐容纳体积:1ml ~ 5ml/管     SampleRack可轻松单独从架子上拿下来     SampleRack可单独购买
12301D	DynaMag-15 Magnet	两个磁力架合一     适用于4个标准15ml离心管,或翻转180°后可适用于4个5ml流式管     推荐容纳体积:4~15ml/管     可360°旋转
12302D	DynaMag-50 Magnet	<ul><li>适用于2个50ml的离心管</li><li>推荐容纳体积: 10 ~ 50ml/管</li><li>可360°旋转</li></ul>

### 样品混匀

Invitrogen™HulaMixer™样品混匀器是一种结合振动、 摆动和旋转于一体的三合一样品混匀器,用于充分混 合微量离心管和实现可重复性的样品制备。



### 订购信息

产品	规格	货号
HulaMixer Sample Mixer	1 unit	15920D

磁力架可与任何类型的Dynabeads配合使用

## 自动化平台

使用Thermo Scientific™ KingFisher™纯化系统优化您的DNA和RNA纯化工作流程并进行自动化操作。当与兼容的含磁珠的试剂 (如MagMAX试剂盒) 一起使用时, 这些处理器可实现DNA和RNA分离程序的多样自动化。如需了解更多信息和进行演示申请, 请访问 thermofisher.com/kingfisher

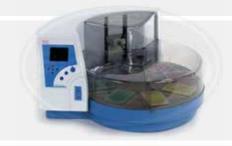


### Thermo Scientific™ KingFisher™ Duo Prime 纯化系统

进行自动化核酸提取和蛋白质纯化的经济之选,每次可处理多达12份样品,可一次加载24份样品。

### Thermo Scientific™ KingFisher™ Flex 纯化系统

高度通用且可重复的样品纯化,每次运行可纯化24或96份样品。





### Thermo Scientific<sup>™</sup> KingFisher<sup>™</sup> Presto 纯化系统

利用磁珠技术,为高通量实验室提供高质量的靶标核酸和蛋白质产出。

Thermo Scientific™ KingFisher™ Apex 纯化系统 用于DNA、RNA、蛋白质和细胞自动纯化的巅峰之作,每次运行可纯化24或96份样品,能实现低至10µL的样品洗脱体积。





#### 资源

浏览下列DNA和RNA支持类别以获取相关技术信息,请在开始实验前查看技巧和要诀,并找到日常问题的解答。

thermofisher.com/napsupport thermofisher.com/technicalresources thermofisher.com/prepforsuccess thermofisher.com/rnabasics thermofisher.com/rnahandlingtips thermofisher.com/magmax



反转录是使用单链RNA作为模板,通过反转录酶合成互补DNA(cDNA)的过程。cDNA可用作PCR扩增的模板、cDNA文库构建、RNA测序等。选择合适的反转录酶对于成功检测样本中的低丰度RNA,并获得高产量的全长cDNA至关重要。

有关反转录的更多技术资源, 请访问

thermofisher.com/rteducation

## 选择合适反转录酶需要考虑的因素

反转录酶的灵敏度、热稳定性、持续合成能力和抑制剂耐受性均会影响所合成 cDNA的数量和长度。

#### 灵敏度

在处理低拷贝基因或RNA已经发生降解的困难样本时,选择使用能够从极少量起始RNA中生成cDNA的反转录酶至关重要。

#### 热稳定性

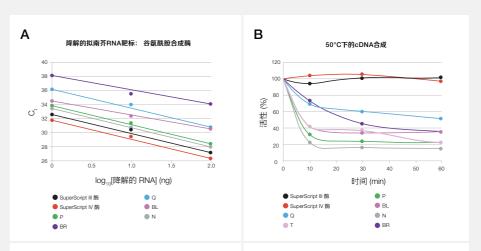
具有热稳定性的反转录酶使得反应可以在较高温度下进行,这有助于使具有复杂二级结构或高GC含量的RNA变性,从而获得更长的cDNA片段、更高的产量以及更好的RNA覆盖度。

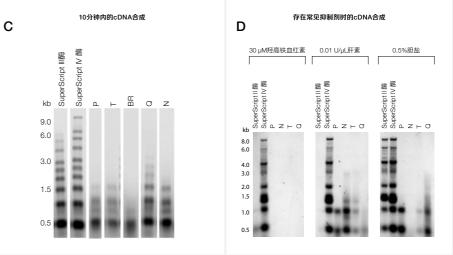
### 持续合成能力

持续合成能力是酶在不脱离模板的情况下持续添加核苷酸的能力。具有高持续合成能力的反转录酶可在更短的反应时间内合成更长的cDNA链,且合成全长cDNA的效率更高。

### 抑制剂耐受性

即使在纯化后,RNA样本中也经常存在对反转录酶具有抑制作用的化合物。这些化合物的来源包括RNA纯化过程中的试剂成分、生物样本中携带的污染物等。选择对常见抑制剂具有耐受性的反转录酶有助于最大程度减少cDNA相关实验中不一致或不理想的结果。





反转录酶的(A)灵敏度、(B)热稳定性、(C)持续合成能力和(D)抑制剂耐受性可影响所合成 cDNA的数量和长度。

## 反转录试剂选择指南

可灵活优化反应组 包含cDNA合成所 使用最方便,移液步 使用最方便,移液步 从哺乳动物细胞中直 杂和反应条件 需所有组分的完整 骤最少,用于RT- 骤最少,用于RT- 接进行cDNA合成, 在PCR PCR 无需RNA分离提取

产品形式	单酶	第一链cDNA合成 试剂盒	第一链cDNA合成预混液, 用于RT-qPCR	一步法RT-PCR试剂盒	直接反转录试剂盒
推荐产品	Invitrogen™ SuperScript™ IV 反转录酶	Invitrogen™ SuperScript™ IV第一链合成系统	Invitrogen™ SuperScript™ IV VILO™预混液	Invitrogen™ SuperScript™ IV一步法RT-PCR系统	Invitrogen™ SuperScript™ IV CellsDirect™ cDNA 合成试 剂盒
应用	RT-PCR、RT-qPCR、 克隆、cDNA文库构 建、RACE、RNA测序	RT-PCR、RT-qPCR、 克隆、cDNA文库构 建、RACE、RNA测序	RT-qPCR	RT-PCR	RT-PCR、RT-qPCR
起始总RNA量	1 pg-5 μg	1 pg-5 μg	0.01 pg-2.5 μg	0.01 pg-1 μg	1-10,000 个细胞
最佳反应温度	50-55°C	50-55°C	50-55°C	50-55°C	50-55°C
反转录时间	10 min	10 min	10 min	10 min	10 min
处理困难RNA样本或降解 RNA样本时是否可获得高 cDNA产量		٠	•	•	•



### 您知道吗?

由于储存缓冲液中存在甘油,因此常规的酶形式不兼容冻干处理。SuperScript 反转录酶的可冻干(lyo-ready) 形式只有不到 0.1% 的甘油含量,可为冻干处理的分子诊断试剂带来更高的稳定性。详情请访问 thermofisher.com/lyoreadyenzymes

详情请访问 thermofisher.com/superscript

## 基因组DNA去除

RNA柱法纯化方法,即使包括DNase酶消化,也通常不能完全去除gDNA。污染的gDNA可导致非特异性扩增。使用DNase I 的传统gDNA去除方法包含耗时的DNase激活和失活步骤,此激活失活条件下RNA可能会受到损伤,从而影响实验结果。

我们的SuperScript IV一步法RT-PCR系统和 SuperScript IV VILO预混液可随附提供新型dsDNA 特异性的Invitrogen™ ezDNase™酶,可实现从RNA 样本中高效、快速和温和(37°C下不到5分钟)地去除gDNA,以确保RT-PCR和RT-qPCR结果的高可信度。



详情请访问 thermofisher.com/ssiv-onestep 和 thermofisher.com/4vilo

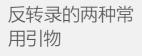
## 反转录引物

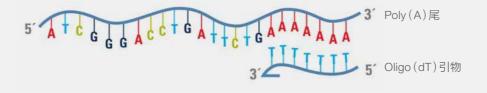
反转录引物的选择对于cDNA合成的效率、一致性和 产量都至关重要。每种引物类型都有其优点和缺点, 具体均取决于靶标RNA。

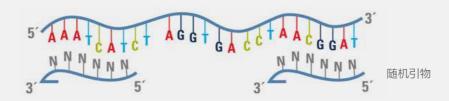
对于全长第一链cDNA合成,推荐使用Oligo(dT)引物,其对真核生物mRNA具有特异性,并且可实现对同一cDNA pool里的多个靶标同时进行研究。Oligo(dT)引物通常是一串12-20个脱氧胸腺嘧啶

核苷。我们可提供不同长度和形式的Oligo(dT)引物,可满足您反转录实验所需的灵活性。

对于含有转录停顿位点的靶标mRNA,则更适合使用随机引物,因为它们可在整个靶分子内进行退火。它们也是非多聚腺苷酸化RNA的理想选择,例如细菌RNA。









#### 实用技巧

为了避免退火期间Poly(A)发生滑移,可使用锚定的oligo(dT)引物来退火至mRNA的poly(A)尾5'末端,并防止在poly(A)尾内部发生退火。有关反转录引物选择的更多信息,请访问 thermofisher.com/rteducation

Random Hexamers

24-bour Emergency Response, Call CHEMTREC USA 4 Caratte 1-800 424-8000 +1 703-527-8687 Caratte USA 8 Caratte +1 703-741-5870

**1952388** 

详情请访问 thermofisher.com/rtprimers



聚合酶链式反应(PCR)是一种将靶标DNA序列的单个拷贝扩增至数百万拷贝的灵敏有效的方法。通过PCR进行DNA扩增是克隆、基因表达分析、基因分型、测序和诱导突变的重要步骤。PCR具有广泛的应用范围,包括对传染病、癌症、法医分析和农业生物技术的研究。

有关PCR的技术资源,请访问 thermofisher.com/pcreducation

### PCR仪

PCR仪(也称为热循环仪)具有扩增DNA所需的自动化加 热和冷却循环,其对PCR的成功至关重要。选择PCR仪 时,需要考虑以下事项。

#### 精确的温度控制

具有精确温度控制功能的PCR仪使您能够快速准确地确定最佳退火温度。市场上有多种模块技术,包括梯度和Applied Biosystems™ VeriFlex™温度控制。VeriFlex加热模块在每个温度区域采用独立的加热和冷却元件,可以更好地控制温度使其更加精确。更多技术信息请访问thermofisher.com/veriflextechnology

### 可靠性

PCR仪应能够承受一定的重复使用、环境压力和运输条件。组件可靠性测试可通过机械装备进行,以反复测试常用的仪器组件,如热盖、触摸屏和温度循环模块。Applied Biosystems™ PCR仪符合严格的可靠性标准,报告见thermofisher.com/thermalcyclerreliability

### 温度准确性

PCR仪温度的准确性是关系PCR反应成败的关键因素。在退火温度优化过程中,温度准确性尤为重要,需要PCR 仪加热模块兼具准确性和一致性。如果PCR仪的温度设定值与模块的实际温度不符,则可能需要进一步优化温度。如需查看不同型号的温度准确性比较,请访问thermofisher.com/thermalcycleraccuracy

#### 功能

我们提供各种Applied Biosystems PCR仪,可满足您的应用和预算需求。根据您的需求,某些功能可能对您很重要。如果您经常进行PCR优化,您可能会需要带有VeriFlex加热模块的仪器。如果您想在新的或不同的PCR仪上运行已经优化的程序,可以使用模拟模式节省进行重新优化的时间。

如果您想远程访问您的仪器,您可以尽享可连接云平台的PCR仪为您带来的便利。这类PCR仪可让您借助任何移动设备或台式电脑,随时随地设计和共享实验方案、预约仪器、开始或停止运行以及检查运行状态。

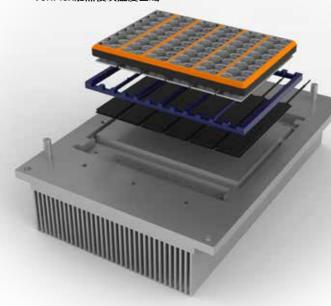
如果您管理多个PCR仪和用户,您也可以从单个界面上一目了然地查看所有仪器,并自定义设置仪器、用户和程序的访问权限,让您如虎添翼。详情请访问thermofisher.com/fleetcontrol



#### 实用技巧

使用适合您的应用和仪器的PCR塑料耗材可以提高您所获取的PCR结果的可靠性。可访问thermofisher.com/findplastics,选择适合您的PCR塑料耗材

#### VeriFlex加热模块温度区域



详情请访问 thermofisher.com/thermalcyclers

## 选择适合您的Applied Biosystems PCR仪







### ProFlex<sup>™</sup> PCR 系统

- > 您是否与同事共用仪器?
- > 您预期通量需求是否会发生变化?
- > 您是否想要远程访问仪器?

### VeritiPro™ PCR仪

- > 您是否需要进行大量的优化?
- > 您是否需要一台更安静快速的仪器?
- > 您是否想要远程访问仪器?

主要优点	超高的灵活性和通量,可更换加热模块	经典延续,全新升级
最大样品处理通量	480,000个样品反应	96个样品反应

加热模块最大变温速率 6.0°C/秒 6°C/秒

温度优化 96孔系统, 6区VeriFlex加热模块; 96孔系统, 6区VeriFlex加热模块 3×32孔系统,2区VeriFlex加热模块

兼容中央控制软件 是 是

需要可用于体外诊断的PCR仪? 请访问thermofisher.com/veritidx









### SimpliAmp™ PCR仪

- > 您是否需要一个直观的界面?
- > 您是否经常培训新技术人员?
- > 您是否想要远程访问仪器?

### MiniAmp™ Plus和MiniAmp™ PCR仪

- > 您是否想要一种仅具有常规PCR功能的仪器?
- > 您是否想要远程访问仪器?

### 自动化PCR仪

> 您是否想现在或将来将仪器放在自动化平台上?

是	是	是
96孔系统,3区VeriFlex加热模块	MiniAmp Plus: 96孔系统上的3区VeriFlex加热模块 MiniAmp: 无	无
4.0°C/秒	MiniAmp Plus: 3.5°C/秒; MiniAmp: 3.0°C/秒	3.5°C/秒
96个样品反应	96个样品反应	384个样品反应
优雅简约且精准控温	提升常规PCR	易于整合机器人

### 详情请访问 thermofisher.com/thermalcyclers

## PCR塑料耗材、密封产品和配件

由于PCR是一种灵敏的检测方法,因此PCR塑料耗材必须具有高质量,并且不含污染物和抑制剂,以保证最佳的性能。无论您选择哪种形式的塑料耗材,恰当的适配性以及热循环过程中均匀的热传递都是必不可少的。

### 制造质量控制

Applied Biosystems™ PCR和qPCR塑料耗材由专注于生产高质量的分子生物学级塑料的世界一流厂家制造。制造完成后,所有塑料耗材都经过严格的质量控制。

完整性测试:对每个板的每个孔进行目视检验,并使用静电针孔检测方法对其进行测试。这种彻底的筛选可以验证每个孔是否足够完整,可保护所有反应。

蒸发测试:通过PCR运行样品来测试密封性能。在PCR后测量孔的液体体积以验证密封完整性。这有助于确保每个生产批次均符合严格的公差范围。

生物测试: 经生物测试证明, 我们的塑料耗材不含DNA、RNase和PCR抑制剂。我们的General Purpose Laboratory Equipment (GPLE)耗材每个包

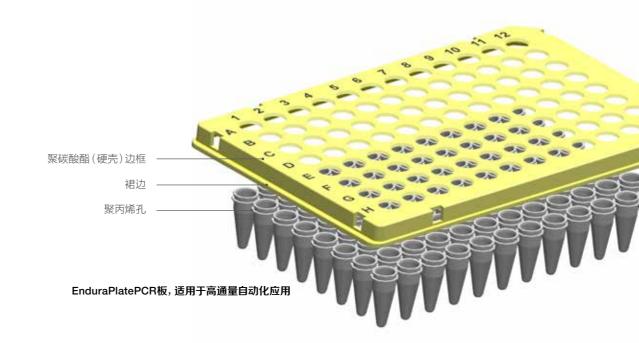
装都包含一份PCR证书,以便于您使用和记录。

### 制造材料

Applied Biosystems™ MicroAmp™光学PCR板由聚丙烯制成,可进行最佳的热能传输,实现高效PCR。选择精选的医用级聚丙烯是因为其卓越的生物兼容性和惰性。

Applied Biosystems™ EnduraPlate™PCR板的边框采用更强的聚碳酸酯制成,可抵抗机器人抓手造成的变形,并更好地承受快速加热和冷却,同时保留薄壁聚丙烯孔,以便有效地将热量传递至反应混合物。这些板的聚碳酸酯边框有多种颜色可供选择,有助于在高通量环境中对分析进行有序和可视化监控。





详情请访问 thermofisher.com/pcrplastics

Applied Biosystems PCR和qPCR塑料耗材已经过可靠性和最佳性能的验证和测试。这些塑料耗材"经工程师验证",适用于所有Applied Biosystems PCR仪和实时PCR仪器,以32孔、48孔、96孔和384孔板,联管,单管,管盖和密封产品的形式提供。下表提供了每种产品的详细比较。轻松查找适合您的仪器型号的PCR和qPCR耗材,请登录在线选择指南thermofisher.com/findplastics。



### **Engineer Approved**

	少数样品的小规模实验	每日实验需求	完整的工作流程实验需求,是自动化的理 想之选	诊断程序和兼容自动化
	单管、联管、管盖、粘性封板膜和配件	MicroAmp™光学PCR板	MicroAmp™ EnduraPlate™光学PCR板	EnduraPlate™光学GPLE*反应板
形式	<ul><li>单管</li></ul>	• 32孔板	• 96孔板	• 96孔板
	● 带管盖的单管	• 48孔Fast板	• 96孔Fast板	• 96孔Fast板
	● 带管盖的8联管	• 96孔板	• 384孔板	• 384孔板
	● 12排管盖	• 96孔Fast板	• 96孔全裙边板	
		• 384孔板		
无DNA、RNase、PCR 抑制剂	是	是	是	是
可选颜色	透明,或含红色、橙色、蓝色和绿色的混合套装	透明	单色套装(红色、蓝色、绿色、黄色或透明) 和5块板套装(每块板1种颜色)	透明
条形码	无	有(1或2个面)	有(3个面)	有(3个面)
自动化兼容			是	是

<sup>\*</sup> General Purpose Laboratory Equipment (GPLE): 每批反应板均通过ISO 13485注册工厂认证, 不含DNA、RNase和PCR抑制剂。用于诊断程序的理想之选。









#### 你知道吗?

通常对于加热模块来说,需要使用低容耗材,也被称为"快速"管或板。与标准管或板 (0.2~mL) 相比,快速塑料耗材使用更低的体积 (0.1~mL)。低容使反应体系上方的空间得到最大程度减少,有助于降低蒸发的影响并提高热传导效率。有关PCR和qPCR塑料耗材的更多信息,请访问 thermofisher.com/pcrplastics-education

## PCR试剂

DNA聚合酶是PCR的重要组成部分,它在合成新的 DNA链中起着关键作用。由于PCR的灵敏度和特异性,选择高质量的酶和试剂对获得最佳结果非常重要。选择PCR酶时需要考虑以下几个因素。

#### 特异性

非特异性扩增是PCR的主要障碍之一,它可以极大地 影响靶标扩增的产量和灵敏度。减少非特异性扩增 的一种方法是使用热启动DNA聚合酶,其利用抗体或 化学修饰使得聚合酶仅在变性步骤的高温条件下被 激活。除了增强特异性外,热启动DNA聚合酶还可提 高扩增产量,并可为高通量应用提供方便的室温反应 体系配制。

#### 热稳定性

由于热循环是DNA扩增重复链式反应条件的关键特征,因此所使用DNA聚合酶的热稳定性也是一项重要的特征。建议使用具有极高热稳定性的DNA聚合酶来扩增富含GC的模板或长模板,这些模板通常需要长时间的高温反应。

#### 保真度

DNA聚合酶的保真度(或校正能力)基于其3′-5′核酸外切酶活性,其可校正错误插入的核苷酸。该功能在克隆、测序和定点突变等应用中,对DNA序列的精确复制至关重要。

#### 持续合成能力

DNA聚合酶的持续合成能力定义为在一次结合中插入的核苷酸数量。此特性通常反映合成率和合成速度,以及对底物的亲和力。因此,合成能力高的DNA聚合酶有利于扩增具有挑战性的模板,例如长片段、富含GC或含有抑制剂的DNA。

### 引物退火温度

在设计PCR方案时,通常需要优化待扩增DNA片段的引物退火温度。为了最大限度地减少温度优化并实现对多个PCR反应同时进行扩增,可以考虑使用带有独特反应缓冲液的DNA聚合酶,其可在60°C下进行通用引物退火。



#### 你知道吗?

为了获得更高的灵敏度和特异性,不含DNA的 Taq DNA聚合酶(使用新型一次性封闭系统生产制造)经证明具有极低的DNA污染水平(每个酶单位0.01拷贝细菌基因组DNA)。白皮书下载地址thermofisher.com/dna-free



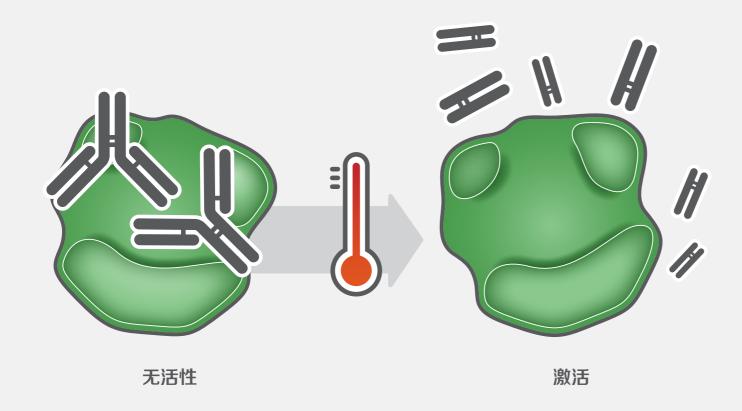
#### 实用技巧

直接PCR是一种简化PCR实验,节省时间和防止样本损失的方法。直接PCR允许您从样本中直接扩增目标DNA,无需分离和纯化核酸的步骤,可用于小鼠基因分型、CRISPR基因编辑细胞的分析鉴定和珍贵样本的靶标 DNA 检测等实验应用。



了解更多, 请登录 thermofi sher.com/direct-pcr

# 基于抗体的热启动DNA聚合酶及其在PCR中的激活过程





### 实用技巧

PCR中最常见的疑难问题之一是存在意料之外的条带或非特异性扩增。减少非特异性扩增的方法有:

- 优化退火温度
- 检查引物设计
- 使用热启动PCR
- 防止DNA交叉污染
- 降低模板或引物浓度
- 优化Mg<sup>2+</sup>浓度

## 选择最适合您研究需求的PCR试剂

我们提供完整的PCR酶和预混液产品组合,可满足您的高性能需求和一致性需求。您可以使用以下选择指南,查找适合您PCR应用的最佳DNA聚合酶。

DNA聚合酶	Invitrogen <sup>™</sup> Platinum <sup>™</sup> SuperFi <sup>™</sup> II DNA聚合酶	Invitrogen <sup>™</sup> Platinum <sup>™</sup> II Taq 热启动DNA聚合酶	Applied Biosystems™ AmpliTaq™ Gold 360 DNA 聚合酶	Invitrogen <sup>™</sup> Platinum <sup>™</sup> 直接PCR通用预混液
PCR类型	高保真PCR	热启动PCR	热启动PCR	直接PCR
功能	准确的DNA序列,通用退火温度,强劲扩增困难样本	通用引物退火,快速DNA扩增,低丰度靶标检测	化学热启动	无需核酸提取,直接检测 目标序列是否存在
技术参数				
与Taq聚合酶相比的保真度	>300x	1x	1x	1x
目的片段长度	长达20kb*	长达5kb	长达5kb	长达8 kb
热启动修饰	抗体介导	抗体介导	化学修饰	抗体介导
扩增速度	15-30 sec/kb	15 sec/kb	60 sec/kb	20 sec/kb
通用引物退火	是	是		是
抑制剂耐受性	是	是		是
平末端或3´-A端	平末端	3´-A	3´-A	3´-A
与Applied Biosystems™ TaqMan®探针的兼容性		是	是	
经认证细菌gDNA含量低	是	是	是	
应用				
克隆和亚克隆	•			
定点突变	•			
富含GC的模板	•	•	•	•
用于测序的模板扩增	•	•	•	•
高通量PCR	•	•		•
长片段PCR(长达20kb)	•			
基因分型	•	•	•	•
不纯样品的扩增	•	•		•
菌落PCR	•	•	•	•
多重PCR	•	•	•	•
快速PCR	•	•		•

<sup>\*</sup>可对>20kb的片段进行扩增(最长达40kb),但可能需要额外优化反应条件和引物设计。

## 不断创新,成就更为卓越的PCR

PCR酶和试剂正在不断改进,以助您更快地实现您的研究目标。例如,最新的Platinum DNA聚合酶的设计包含以下关键创新功能。

### 强劲扩增, 功能多样

经工程改造和创新技术开发的新型DNA聚合酶具有快速扩增,高抑制剂耐受力和高效扩增困难样本(如高GC含量的序列,纯度不佳等)的能力,这些特性使得您可以充满自信地简单快速地扩增目标DNA。

了解更多, thermofisher.com/platinumenzymes

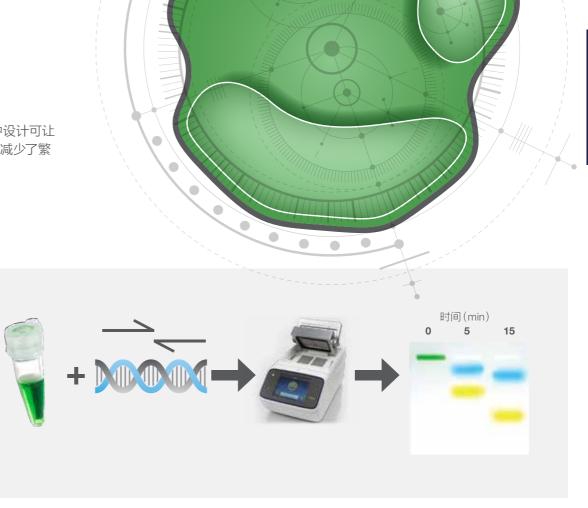
### 通用引物退火

创新的Platinum PCR缓冲液可在60°C下进行通用引物退火。这种设计可让您同时对多个不同PCR反应进行扩增(而不是按顺序进行),大大减少了繁琐的优化步骤并节省了时间。

详情请访问thermofisher.com/universalannealing

### 直接凝胶上样电泳

最新的Platinum DNA聚合酶均可提供绿色缓冲液形式,可实现扩增后直接凝胶上样电泳,免于进行繁琐的染料添加步骤,有助于减少移液错误。使用两种染料(蓝色和黄色)可轻松查看DNA迁移状态,这两种染料在电泳过程中均清晰可见(图中右侧5和15 min的泳道)。



## PCR引物和DNA寡核苷酸

良好的引物设计(即良好的序列选择)和高品质引物对PCR反应至关重要。一般而言,18-30个核苷酸的引物长度最佳。引物的解链温度(Tm)应在65°C至75°C之间(两条引物Tm差值应在5°C范围内)。

### OligoPerfect引物设计工具

无论您是进行PCR、克隆还是毛细管电泳 (CE) 测序,都可以利用我们强大且易于使用的基于Primer3的Invitrogen™OligoPerfect™设计工具。

#### 定制DNA寡核苷酸

Invitrogen™定制DNA寡核苷酸在高度自动化、计算机 控制的系统上合成,经过严格的质量控制。短片段寡 核苷酸采用质谱法质检,长片段寡核苷酸采用毛细管 电泳质检,以确保过程和最终产物的质量。

适合您应用的合成规模和纯化取决于您下游应用的性质。选择适合您应用的寡核苷酸和纯化方法。



#### 实用技巧

如果您的引物Tm值极低,请尝试查找使用GC含量较高的序列,或者可以延长引物长度。有关引物设计的更多技巧,请访问 thermofisher.com/primerdesign



加速—同时设计多达50个基因的引物



存储您的数据一能够保存您的项目



更智能地工作—识别.txt和.fasta文件类型



**轻松订购**——键进入Invitrogen™订购入口

试用OligoPerfect设计工具, 网址为: thermofisher.com/oligoperfect-designer

纯化方法	脱盐 (Desalted)	高效液相色谱分析 (HPLC)	聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)
寡核苷酸	• 25 nmol–10 μmol	• 50 nmol–10 μmol	• 50 nmol–10 μmol
	• 5–100 bp	• 7–55 bp	• 7–100 bp
		• >85%的全长序列	• >90%的全长序列
常规PCR	•		
特殊PCR		•	•
克隆		•	•

除标准运输外,当地如有寡核苷酸生产基地的地区可提供次日送达的服务。有关订购信息、产量保证、设计工具、技术资源、实验方案和常见问题解答的更多信息,请访问 thermofisher.com/oligos



核酸电泳是分子生物学中对核酸进行分离、鉴定、定量或纯化的常用技术。进行核酸电泳包括许多步骤才能达到核酸样本的最佳分离和分析,包括凝胶制备、分子量标准选择和凝胶成像等。

有关核酸电泳的技术资源,请访问

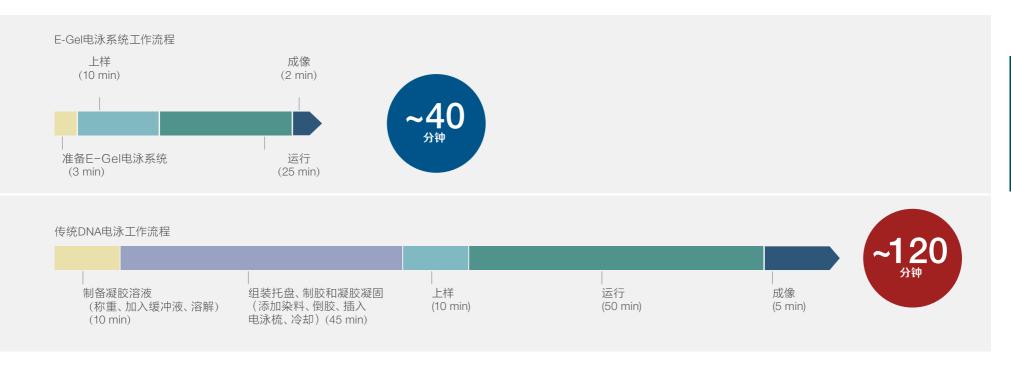
thermofisher.com/na-electrophoresis-education

## 核酸电泳

选择正确的核酸电泳工具可以显著改善和加速电泳,使您能够更快地解决下游应用问题。

确定合适的凝胶类型和凝胶浓度是有助于简化核酸分离流程的重要步骤。在本章节中您可以了解用于琼脂糖凝胶电泳的许多便利工具,包括方便的Invitrogen™ E-Gel™预制琼脂糖凝胶和用于您自制凝胶的Invitrogen™ UltraPure™琼脂糖等试剂。

如果您需要	快速的结果、质量控制和更安全的实 验流程	高质量的试剂、多用途的实验流程和节约 成本
产品	E-Gel预制琼脂糖凝胶	UltraPure琼脂糖
产品形式	预制琼脂糖凝胶	粉末
电泳时间	18 min	120 min
即用型	是	否
详情请访问	thermofisher.com/egel	thermofisher.com/ultrapure



详情请访问 thermofisher.com/electrophoresis

## 使用E-Gel预制琼脂糖凝胶简化电泳流程

#### E-Gel预制琼脂糖凝胶

使用预制琼脂糖凝胶可以简化核酸电泳实验流程。E-Gel预制凝胶是一种独立包装的即用型产品,包含一次性卡盒、琼脂糖、电极和DNA染料。无需配制凝胶、制备缓冲液、染色或脱色步骤。只需上样即可开始电泳。

E-Gel预制凝胶可在≤18分钟内提供出色的分辨率,是分析PCR产物、限制性酶切产物、质粒制备物和基因分型产物的理想选择。为了简化克隆实验流程,Invitrogen™ E-Gel™ CloneWell™ II 凝胶采用双梳设计,可以用于回收下游实验应用所需的DNA,无需额外的纯化试剂盒或步骤。E-Gel™ SizeSelect II 用于从凝胶中回收您感兴趣的DNA条带,适用于<1 kb DNA片段的分离,可用于二代测序平台文库的构建。

详情请访问 thermofisher.com/egel



#### E-Gel DNA Ladder

能否准确分析电泳条带通常取决于您为凝胶电泳所选择的DNA分子量标准品。为了使 E-Gel预制凝胶发挥最佳性能,Invitrogen™ E-Gel™ DNA分子量标准品由经色谱纯化的 DNA片段和即用型上样缓冲液配制而成。基于色谱的纯化方法可以使DNA片段达到优异的纯度和质量,同时优化的缓冲液可以减少染料对条带的掩盖并有助于改善ladder条带的迁移,从而获得更准确的分析结果。

详情请访问 thermofisher.com/egel-ladders



#### 实用技巧

E-Gel预制凝胶可以多种形式提供,可用于常规和高通量应用,具有不同的染料(参见第40页)和琼脂糖百分比(0.8%、1.2%、2%和4%)。如需查找符合您需求的凝胶,请参阅选择指南,网址为thermofisher.com/egelselection

## 详情请访问 thermofisher.com/egels

## E-Gel Power Snap核酸电泳系统

为了减少电泳可能出现的失误和缩短整个流程时间,Invitrogen™ E-Gel™ Power Snap电泳系 统将快速实时的核酸电泳分析与高分辨率成像结合在一起。E-Gel Power Snap电泳系统具有 以下特点:

### 快速电泳一

分钟

## 操作简单一

## 更安全的实验流程一

从上样到凝胶成像仅需15 直观的用户界面,配置大触

摸屏和集成操作系统

最大程度减少接触危险化

学品

详情请访问 thermofisher.com/powersnap

### 用于高通量电泳的E-Gel系统

高通量电泳通常被用来进行PCR产物、质粒制备物和限制性酶切产 物的高通量分析。使用E-Gel 48和E-Gel 96预制凝胶和可扩展的 Invitrogen™ E-Base™电泳系统可以加速凝胶电泳和分析。E-Gel™ Mother E-Base™和Daughter E-Base™设备的集成设计可节省空间,并 且一次可运行多达384个样品。

详情请访问 thermofisher.com/egel-highthroughput



## 电泳试剂

对于自制琼脂糖凝胶,选择高质量的琼脂糖、优化的 DNA分子量标准品和改进的DNA染料可以助您获得 最佳的电泳结果。

#### DNA染料

使用比EB(溴化乙锭)更安全和更灵敏的荧光染料可以改善凝胶中核酸样品的检测。与传统的EB染料相比,Invitrogen™ SYBR™ Safe、SYBR™ Green ISYBR™ Gold染料具有更高的安全性和灵敏度以及更低的背景荧光。

详情请访问thermofisher.com/stains

#### 用于电泳的UltraPure试剂

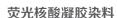
Invitrogen™ UltraPure™试剂经过专门配制,可满足您的核酸分析和纯化需求。UltraPure琼脂糖和试剂由高纯度的生物化学品制成,具有超高的可靠性和卓越的性能。

详情请访问thermofisher.com/ultrapure

## DNA分子量标准品

Invitrogen™ DNA分子量标准品可提供多种大小范围 (10 bp至15 kb) 和不同形式,用于各种不同的实验 应用。为了生产高质量的DNA分子量标准品,每个片 段都经色谱技术单独纯化。我们的DNA分子量标准 品在室温下长时间储存及经过多次冻融后仍然保持 稳定。

详情请访问thermofisher.com/ladders



	常规检测	更安全的检测	灵敏的检测	最灵敏的检测
	UltraPure溴化乙锭	SYBR Safe染料	SYBR Green I染料	SYBR Gold染料
灵敏度 (dsDNA)	灵敏(1 ng)	灵敏(1 ng)	高度灵敏 (>60 pg)	超灵敏(>25 pg)
无危害且环保		•		
增强克隆效率		•	•	•





#### 您知道吗?

经色谱纯化的核酸片段被认为是分子量标准品的金标准,因为该技术实现了对分子量标准品组分的质量、带型、强度和数量的出色控制。

详情请访问 thermofisher.com/ na-electrophoresis-education



分子克隆涉及重组DNA技术, 其将目标DNA序列插入载体中以产生大量拷贝。传统上, 使用限制性内切酶和DNA连接酶进行克隆, 以形成能够表达目的基因的新载体。其他克隆方法, 如PCR克隆、TOPO™克隆, 不依赖连接酶的克隆以及基因组装也是常见的方法。

有关分子克隆的技术资源请访问

thermofisher.com/cloningeducation

# 分子克隆技术总览

从限制性内切酶到基因合成,我们可提供大量的克隆研究工具和相关资源,助您获得高质量的克隆DNA,以供您接下来的研究发现。

克隆方法	Invitrogen™ Anza™ 限制性内切酶克隆	Invitrogen <sup>™</sup> TOPO <sup>™</sup> 克隆	Invitrogen <sup>™</sup> Gateway <sup>™</sup> 克隆	Invitrogen™ GeneArt™ 无缝克隆和GeneArt™ Gibson Assembly 克隆	Invitrogen <sup>™</sup> GeneArt <sup>™</sup> Type IIs 组装	Invitrogen™ GeneArt™ Strings™ DNA Fragments	Invitrogen <sup>™</sup> GeneArt <sup>™</sup> 基因合成
主要优点/说明	<ul><li>熟悉、灵活、便捷、 省时</li><li>通用实验方案,15分钟完成酶切,使用统一缓冲液</li></ul>	<ul><li>&gt; 95%效率, 5分钟 PCR克隆</li><li>与许多其他克隆系 统兼容</li></ul>	• 片段可在多种表达载 体之间进行高通量和 高效率的穿梭	<ul><li>通过同源重组进行 无缝多片段组装</li><li>定向克隆多达15个 片段</li><li>高达95%的克隆效 率,15分钟完成克隆</li></ul>	通过同时进行限制性酶切和连接实现单管无缝多片段组装     定向克隆多达8个片段,总计长达20 kb     对重复和极小序列也有效	<ul><li>合成的DNA片段,可以通过您选择的方法进行克隆</li><li>无需起始DNA</li><li>序列经验证</li></ul>	<ul><li>在载体中自定义克隆基因</li><li>序列经验证</li><li>可以优化,以实现最大的蛋白表达</li></ul>
技术基础知识	• 限制性酶切和DNA 连接	• 基于拓扑异构酶的克隆, 无需连接酶	<ul><li>一步法,实现定向和位点特异性DNA重组</li><li>无需限制性内切酶和连接酶</li></ul>	<ul><li>使用重叠序列进行末端同源重组</li><li>酿酒酵母中转化相关的同源重组(TAR)</li></ul>	• 在一个反应中完成 Type IIs限制性酶切 和连接	线性dsDNA, 由合成 寡核苷酸组装而成     150-3000 bp, 还可 以带随机碱基的文库 形式提供	目的DNA克隆至载体中     100%序列经验证,可提供质量保证文件
需要DNA来源材料(质 粒、文库中的基因等)	•	•	•	•	•		
使用您自己的载体	•		*	•	•	•	•

<sup>\*</sup>载体需要使用Invitrogen™ Gateway™ Vector Conversion System及One Shot™ ccdB Survival™ 2 T1<sup>R</sup>感受态细胞进行转换。

## 限制性内切酶克隆

限制性内切酶天然存在于细菌中,可识别并切割特异性DNA序列,形成粘性末端 (5′或3′突出末端)或平末端,使DNA插入片段能够克隆至具有匹配末端的载体 内。星号活性、缓冲液兼容性和进行完全酶切所需方案不同,是限制性酶切的一些常见疑难。

#### Anza限制性内切酶

为了简化克隆实现流程,我们提供一个完整的、限制酶和内切酶均使用统一缓冲液的的系统—Anza限制性内切酶克隆系统。其优点包括:

- 所有限制件内切酶均使用一种统一缓冲液
- 所有类型的DNA均使用一种统一酶切方案
- 15分钟内完成酶切
- 即使过夜酶切也不会出现星号活性

详情请访问 thermofisher.com/anza

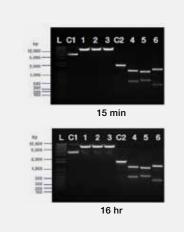
#### Type IIs限制性内切酶

被称为Type IIs内切核酸酶的一组特定限制性内切酶,在其识别序列之外切割 DNA。与DNA连接酶组合使用时,可利用Type IIs限制性内切酶驱动一个或几个 DNA片段插入受体载体,并且在片段连接处不包含残留的限制性内切酶位点和其它不需要的DNA序列(无痕克隆)。

如需查找Anza IIs型酶和应用说明,请访问

thermofisher.com/anzatypeiis

如需GeneArt Type IIs组装试剂盒,请访问 thermofisher.com/typeiis



L 1 Kb Plus DNA分子量标准品

C1 未酶切的质粒DNA

1 + Anza 11 EcoRI

2 + Anza 12 Xbal

3 + Anza 1 Notl

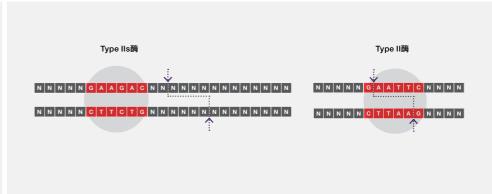
C2 未酶切的PCR片段

4 + Anza 11 EcoRI

5 + Anza 12 Xbal

6 + Anza 1 Notl

Anza限制性内切酶在15分钟内显示完全酶切, 并且在过夜酶切后没有星号活性。



Type IIs和Type II限制性内切酶的识别位点和切割位点比较

## PCR克隆

PCR克隆是将通过PCR扩增的双链DNA片段连接至载体中的方法。通过PCR扩增,这一克隆技术需要的用于插入序列的起始材料更少,并允许在插入片段的5′末端引入新的限制或重组位点。

### TOPO克隆

TOPO PCR克隆技术的开发用于帮助提高克隆效率、简化方案设置,并适应各种 PCR插入片段尺寸。利用与每个末端的3'磷酸共价结合(参见下图)的拓扑异构酶 I(其也具有连接酶功能)的活性,将TOPO克隆载体线性化。该系统使载体能够在 5分钟内轻松地与具有匹配末端(效率高达95%)的PCR插入片段连接,而无需额 外的连接步骤。

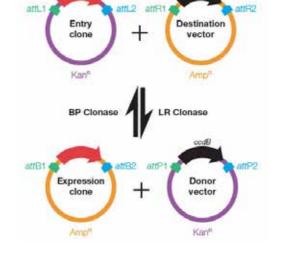
详情请访问 thermofisher.com/topo

#### Gateway克隆

为了使PCR插入片段在载体之间穿梭,Gateway克隆系统提供基于重组酶的位点特异性克隆。其使用Gateway载体保持插入片段在穿梭期间的正确方向和阅读框。一旦基因被克隆进入门载体,即可轻松将片段移至一个或多个目标载体。

详情请访问 thermofisher.com/gateway







#### 您知道吗?

Invitrogen™ TOPO™ XL-2完整PCR克隆试剂盒为长度为1-13 kb的超长PCR片段高效克隆提供了所有必需的组分。

thermofisher.com/topoxl2

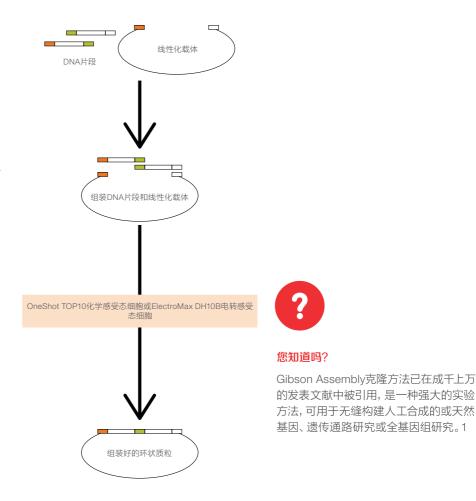
### 无缝克隆和GeneArt Gibson Assembly克隆试剂盒

如需通过末端同源重组组装多个PCR片段,可使用多种无缝克隆技术,将片段无痕且定向地克隆进任何载体。GeneArt无缝克隆试剂盒可提供分别使用E.coli或 Saccharomyces cerevisiae进行载体构建的两种选择。

Invitrogen™ GeneArt™ Gibson Assembly® 试剂盒可实现同时组装多达15个大片段,获得不含额外序列的准确克隆载体。这种克隆方法避免了多轮酶切、DNA末端修复、去磷酸化、连接、酶失活和纯化,是合成生物学中一种功能强大的研究工具。

GeneArt Gibson Assembly试剂盒特点如下:

- 可组装多达15个片段获得无缝克隆
- >95%的克隆效率
- 完整试剂盒, 有多种形式选择(含感受态形式或预混液形式)



## 了解更多信息, 欢迎访问 thermofisher.com/seamless

1. Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. Gibson DG et al. (2009) Nat Methods 6(5):343-5.

## 使用合成的DNA进行克隆

如果您没有时间制备和克隆DNA插入片段,包括克隆优化和解决疑难问题,我们的合成DNA片段和克隆服务可能正合您意。GeneArt Strings DNA Fragments和GeneArt基因合成提供合成的基因,其类似于经优化、无错误的PCR产物。

## **GeneArt Strings DNA Fragments**

作为省时的PCR产物替代品, GeneArt Strings DNA片段可提供长达3 kb的片段, 并且与所选择的任何下游克隆方法兼容, 其提供:

- 即用型合成DNA片段
- 提供包含您所需指定末端的DNA, 便于用于您选择的克隆方法
- 无需起始DNA
- 使用Invitrogen™ GeneArt™ GeneOptimizer™软件自由优化基因, 实现更高的蛋白表达产量
- 可提供Strings DNA文库, 含有使用全IUPAC编码的、随机分布的混合核苷酸

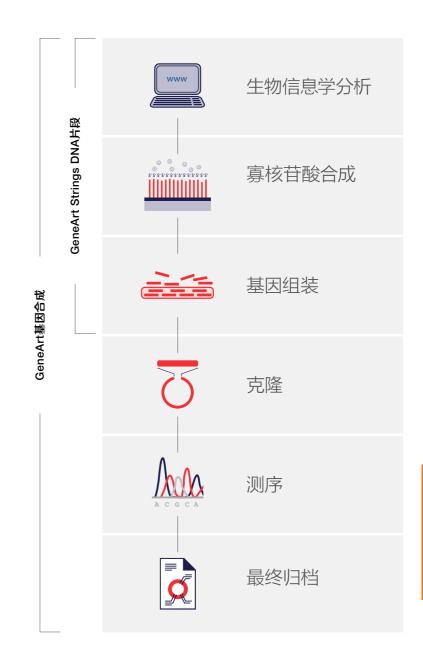
详情请访问 thermofisher.com/strings

### GeneArt基因合成

GeneArt基因合成是一种可靠且经济的方法,可获得具有100%序列准确度的定制DNA构建载体,其提供:

- 可立刻用于转染的合成基因
- 克隆至多个可用的载体中(可提供载体自定义选择)
- 100%序列经验证, 可随时用于下游应用
- 无需起始DNA
- 使用GeneOptimizer软件自由优化基因, 实现更高的蛋白表达产量

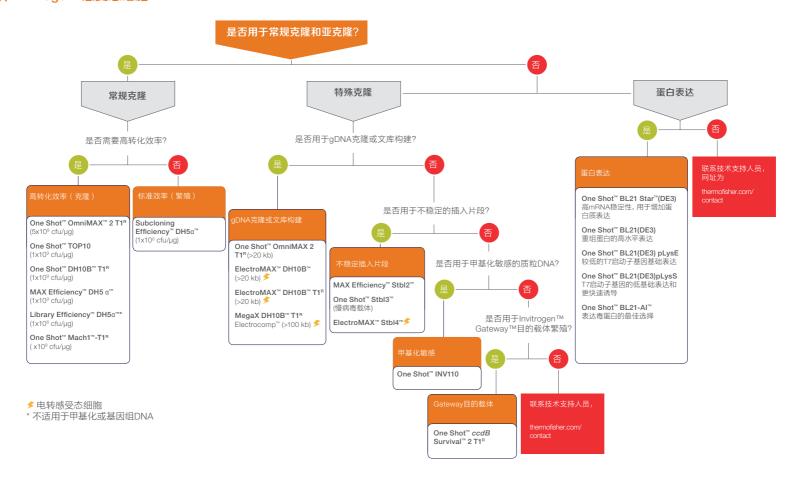
详情请访问 thermofisher.com/genesynthesis



## 转化

将DNA片段克隆至载体后,在细菌中进行转化,以便能够繁殖足够量的克隆DNA用于下游实验。用于转化的感受态细胞的选择取决于转化方法、菌株基因型、质粒特征和所需的应用。有关感受态细胞的技术资源,请访问 thermofisher.com/compcells-education

### 根据应用选择Invitrogen™感受态细胞



详情请访问 thermofisher.com/compcells

# 转化(接上页)

### 中高通量转化

逐个进行细菌转化可能非常耗时,会成为实验流程中的瓶颈。因此有时需要中通量或高通量转化产品。Invitrogen™ MultiShot™化学感受态细胞以三种灵活的产品形式提供,以满足您的通量需求。

详情请访问thermofisher.com/multishot



## StripWell形式

- 适用于中通量
- 12排8联管
- 适用于1-96个转化
- 五种大肠杆菌菌株可选

### FlexPlate形式

- 适用于高通量
- 96孔板, 可分割为12 × 8孔板
- 适用于手动或自动化平台
- 六种大肠杆菌菌株可选





### 96孔板

- 最高通量
- 含5个96孔板
- 随同提供TOP10菌株
- 高拷贝数质粒的稳定复制



#### 你知道吗?

Invitrogen感受态细胞可根据您的要求提供定制。大体积和自定义体积以及多种产品形式均触手可及。只需向我们发送电子邮件,至customorders@thermofisher.com即可



我们可提供相关学习资源、移动应用程序、常见问题解答和其他信息,以助您在研究中达到新的高度。

# 学习资源

我们的免费在线学习资源不仅适用于分子生物学研究初学者,也适用于资深分子生物学家,旨在助您重温基础理论、储备专业知识或了解我们最新的创新技术。一起探索我们在以下分子生物学领域的技术资源吧!



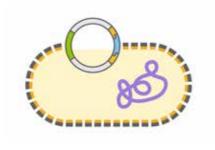




核酸电泳



限制性内切酶、分子克降和感受态细胞





#### 资源

**网络研讨会:** 观看直播和录播的网络研讨会,深入了解分子和合成生物学技术和工具,以帮助提升您的研究。

thermofisher.com/mbwebinars

**视频**: 通过我们关于分子生物学技术、方法、 技巧和窍门的学习视频, 体验寓学于乐的视 觉盛宴。

thermofisher.com/mbvideos

**应用说明:** 阅读我们的研发科学家关于我们 产品创新的白皮书和应用说明。

thermofisher.com/mbliterature

在线工具: 使用我们的交互式在线工具获取 PCR退火温度、限制性内切酶信息、产品选 择等信息。

thermofisher.com/mbtools

## 移动应用程序



## CloningBench—实验室实验工具

CloningBench应用程序旨在为您提供实用和必要的工具,帮助指导您在工作台或移动中的克隆实验。该应用程序包含宝贵的选择指南、计算器和计时器,以帮助简化您的实验设计。



## DailyCalcs—科学计算器

DailyCalcs应用程序将您的手机变成科学计算器,以帮助简化实验室中的日常任务。该应用程序包含八个计算器:摩尔浓度、稀释度、分子量、转染、单位换算、培养容器数据、介质转换和单位生产率。



### Instrument Connect—远程监控

借助由Thermo Fisher™ Cloud驱动的远程监控应用程序 Instrument Connect, 您可以与任何支持赛默飞云平台的仪器保持连接,包括ProFlex、SimpliAmp和MiniAmp PCR仪器。

## 定制和OEM解决方案

作为分子生物学试剂、耗材和仪器的领先供应商,我们可提供定制化的生产解决方案,供公司企业用于下一代分子诊断产品的开发。无论您现在处于分子诊断产品开发的哪一阶段,我们均可提供成品化或定制化的解决方案,助您实现您的目标。选择与熟知原材料和新技术、且经验丰富的供应商进行合作,在获得高质量产品外还可获益良多。

#### 我们的OEM解决方案对您意味着什么?

- 定制化的产品和服务
- 咨询、合作和专业知识
- 协商的商业条款
- 保证与赔偿
- 商业使用的权利和义务
- 风险与责任管理



详情请访问 thermofisher.com/oemmolecular

资源

## 常见问题解答

以下是一些常见问题及答案,可帮助您开始分子生物学实验或解决期间遇到的问题。

#### 样品制备

## 为什么有许多试剂盒可用于从我的样品中分离核酸?

#### 你有什么建议?

选择正确的产品对于确保细胞和组织的适当裂解以及保证所分离核酸的足够产量和质量是至关重要的。请查看我们的选择指南(参见第9-11页)来帮助您根据核酸类型、样品来源、实验通量和下游应用来决定使用哪一种试剂盒。

#### 防止RNA降解的关键步骤有哪些?

下面列出的基本实验室预防措施可以帮助最大限度地减少RNA降解并避免实验 不一致和失败。

- 使用不含核酸酶的吸头和试管。
- 使用不含核酸酶的水和试剂。
- 定期净化工作台面。
- 在储存前适当稳定RNA样品来源。

有关样品制备的更多技巧和故障排除建议,请访问

thermofisher.com/rnabasics 和 thermofisher.com/napsupport

### 反转录

在处理具有挑战性的样本 (例如,低丰度、降解、含抑制剂或富含GC的RNA)时,如何提高cDNA合成的效率?

处理具有挑战性的RNA样本时,请选择具有高灵敏度、持续合成能力、热稳定性和对常见抑制剂具有耐受性的反转录酶,以此来助您获得更高的cDNA产量(参见第20页)。

# 在反转录中使用随机引物、oligo(dT)引物、基因特异性引物或oligo(dT)/随机混合引物的优点分别是什么?

- 随机引物适用于降解的RNA、具有高度二级结构的RNA、非多聚腺苷酸化的 RNA或原核RNA。
- Oligo(dT)引物是从真核生物mRNA中合成全长cDNA的理想选择。应用包括cDNA克降、cDNA文库构建和cDNA未端的3′快速扩增(3′RACE)。
- 基因特异性引物根据靶标RNA的已知序列而设计。这些引物提供高度特异性的引物配对,通常用于一步法RT-PCR。
- oligo(dT)和随机引物的混合物通常用于两步RT-PCR,以实现每种引物类型的优势(参见第22页)。

有关反转录的更多技巧和疑难解答,请访问

thermofisher.com/rteducation 和 thermofisher.com/rtsupport

### PCR扩增

### 我应该如何优化PCR的引物退火?

传统上,梯度PCR仪被用于同时评估最佳退火点附近的多个温度。与梯度PCR仪相比,采用VeriFlex技术的仪器可实现更精确的温度控制,从而更快地优化引物退火(参见第25页)。

使用Platinum II Taq DNA聚合酶可以避免繁琐的优化步骤。其新型的缓冲液按照一般引物设计规则(参见第33页)设计,能够在60°C时对大多数引物进行特异性退火。

## 常见问题解答(接上页)

#### 运行快速PCR时我需要准备什么?

短于1 kb的PCR扩增子可在短短40分钟内完成扩增,需要使用"快速"酶(高持续合成能力;参见第32页)、"快速"PCR耗材(低容和超薄壁;见第28页)和"快速"PCR仪(快速升降温速率;参见第26-27页)。

#### PCR期间, 如何防止样品蒸发?

适当密封您的反应有助于防止PCR过程中的蒸发。

- 使用粘性封板膜密封板时, 务必正确对齐密封位置以覆盖所有孔, 并使用封板 膜刮板沿着板的所有边缘牢固地按压。
- 使用联盖密封板时,请确保联盖与所使用的板和热循环仪兼容。确保将联盖与板的每个孔对齐,并牢固地放在板上,以确保牢固契合。
- 根据需要使用封板膜刮板(货号4333183或4330015)或其他类似的密封工具。

有关PCR的更多技巧和故障排除建议,请访问

thermofisher.com/pcreducation 和 thermofisher.com/pcrsupport

## 核酸电泳

## 为什么使用E-Gel预制琼脂糖凝胶时,选择合适的分子量标准品很重要?

能否准确分析电泳条带通常取决于为凝胶电泳所选择的DNA分子量标准品。E-Gel DNA分子量标准品使用即用型缓冲液(专用于E-Gel预制凝胶)以及DNA标准品(为最佳分离效果而专门设计)配制而成(参见第38页)。

## 是否有更安全的溴化乙锭替代品用于在凝胶电泳中进行核酸染色?

SYBR Safe DNA凝胶染料是一种比溴化乙锭更安全的替代品,并且常用于凝胶电泳。根据美国联邦法规, SYBR Safe DNA凝胶染料不属于危险废弃物或污染物(参见第40页)。

有关核酸凝胶电泳的更多技巧和疑难解答,请访问

thermofisher.com/na-electrophoresis-education 和 thermofisher.com/na-electrophoresis-support

#### 克降

#### 请问有限制性内切酶的缓冲液兼容表吗?

我们所有的Anza限制性内切酶和DNA修饰酶在一种通用Anza缓冲液中均具有100%的活性(参见第44页)。因此,没有Anza限制性内切酶的缓冲液兼容表。

## GeneArt Strings DNA片段和GeneArt基因合成的主要区别是什么?

GeneArt Strings DNA片段是定制的,未经克隆的、双链线性DNA片段。GeneArt 基因合成是一种为基因序列的化学合成、克隆和序列验证而提供的服务(参见第47页)。

#### 为分子克隆实验选择感受态细胞有哪些关键考虑因素?

基因型、转化效率、生长速率和实验通量是选择克隆用感受态细胞的重要因素。 细胞株的基因型可决定生长条件及与特定DNA类型转化的适合度(参见第48页)

有关克隆的更多技巧和疑难解答,请访问 thermofisher.com/cloningeducation 和 thermofisher.com/cloningsupport

## 订购信息

	规格	货号
核酸分离		
PureLink快速质粒小量提取试剂盒	50次	K210010
PureLink HiPure质粒过滤中量提取试剂盒	25次	K210014
PureLink HiPure质粒大量提取试剂盒	10次	K210006
PureLink Pro Quick96质粒纯化试剂盒	4 x 96次	K211004A
PureLink快速凝胶回收试剂盒	50次	K210012
TRIzol Plus RNA纯化试剂盒	50次	12183555
PureLink RNA小量提取试剂盒	10次	12183020
PureLink基因组DNA小量提取试剂盒	10次	K182000
PureLink Pro 96基因组DNA小量提取试剂盒	4×96次	K182104A
PureLink Pro 96病毒RNA/DNA纯化试剂盒	4块板	12280096A
PureLink病毒RNA/DNA小量提取试剂盒	50次	12280050
PureLink植物基因组DNA纯化试剂盒	50次	K183001
MagMAX DNA Multi-Sample Ultra试剂盒	500次	A25597
KingFisher Flex纯化系统,带96深孔磁头	1个系统	A5400630
KingFisher Duo Prime纯化系统	1个系统	A5400110
PureLink PCR纯化试剂盒	50次	K310001
PureLink快速凝胶回收和PCR纯化试剂盒	50次	K220001
PureLink快速凝胶回收试剂盒	50次	K210012
DynaBeads链霉亲和素磁珠		
Dynabeads M-280 Streptavidin	10 mL	11206D
Dynabeads MyOne Streptavidin T1	10 mL	65602
Exosome-Streptavidin Isolation/Detection Reagent	3 mL	10608D
Dynabeads M-270 Streptavidin	10 mL	65306
Dynabeads MyOne Streptavidin C1	10 mL	65002
Dynabeads Streptavidin Trial Kit	4 x 1 mL	65801D

	规格	货号
反转录		
SuperScript IV反转录酶	2,000 units	18090010
SuperScript IV/文柱水醇	10,000 units	18090050
SuperScript IV第一链合成系统	50次反应	18091050
SuperScript IV第一链口风系统	200次反应	18091200
SuperScript IV VILO预混液	50次反应	11756050
Superscript IV VILOJW/kt/IX	500次反应	11756500
SuperScript IV VILO预混液, 带ezDNase酶	50次反应	11766050
Superscript IV VILOJ坝/此/仪,市ezDNase博	500次反应	11766500
SuperScript IV一步法RT-PCR系统	25次反应	12594025
Superscript IV—步压RT-PCR系统	100次反应	12594100
SuperScript IV一步法RT-PCR系统, 带ezDNase酶	25次反应	12595025
SuperScript IV 一少元 IT-PON 余	100次反应	12595100
SuperCariat IV Calla Direct a DNA全成注刻合	50次反应	11750150
SuperScript IV CellsDirect cDNA合成试剂盒	500次反应	11750350
SuperScript IV CellsDirect裂解液	500次反应	11750550
RNaseOUT重组RNA酶酶抑制剂	5,000 units	10777019
RNase H	30 units	18021014
随机六聚体引物(50 μM)	5 nmol	N8080127
随机引物	9 A <sub>260</sub> units	48190011
Oligo(dT) <sub>I2-18</sub> 引物	25 µg	18418012
Oligo(dT) <sub>20</sub> 引物	15 µg	18418020
DNase I, 扩增级	100 units	18068015

## 订购信息 (续)

	规格	货号
PCR		
引物 11-59 bp, 脱盐纯化, 干粉	1-5 OD	A12914
引物 11-59 bp, 脱盐纯化, 干粉	6-10 OD	A12915
引物 11-59 bp, 高亲和纯化(COP/TON/iPAGE), 干粉	1-2 OD	A13838
引物 11-59 bp, 高亲和纯化(COP/TON/iPAGE), 干粉	3-5 OD	A13839
引物 11-59 bp, 高亲和纯化(COP/TON/iPAGE), 干粉	6-10 OD	A13840
引物 11-59 bp, PAGE纯化, 干粉	1-2 OD	A12925
引物 11-59 bp, PAGE纯化, 干粉	3-5 OD	A12926
引物 11-59 bp, PAGE纯化, 干粉	6-10 OD	A12927
引物 11-59 bp, HPLC纯化, 干粉	1-5 OD	A12946
引物 11-59 bp, HPLC纯化, 干粉	6-10 OD	A12947
Tag DNIA 取合酶 丢织药	500 units	10342020
Taq DNA聚合酶,重组酶	3 x 500 units	10342046
Platinum II Taq热启动DNA聚合酶	100次反应	14966001
	500次反应	14966005
Platinum II热启动PCR预混液 (2X)	50次反应	14000012
Platinum II於DAJPORJW/能放(2A)	200次反应	14000013
Platinum II热启动Green PCR预混液(2X)	50次反应	14001012
Platinum II於DAJGreen PCRJ與底板 (2X)	200次反应	14001013
Platinum II Green PCR缓冲液 (5X)	4 x 1.25 mL	14966123
A SOUTH OF COLD DATA EX A SECTION OF COLD D	100 units	4398813
AmpliTaq Gold 360 DNA聚合酶	250 units	4398823
AmpliTag Gold 360预混液	1 mL	4398876
Ampirraq Gold Soojy, ee/ix	5 mL	4398881
AmpliTaq Gold™ DNA Polymerase with Buffer I (MgCl <sub>2</sub> pre-	250 units	N8080240
added)	1000 units	N8080246
AmpliTag Gold™ DNA Polymerase with Buffer II and MgCl <sub>2</sub>	250 units	N8080241
Ampirray dolu DIVA Folymerase with duffer it and MgOI <sub>2</sub>	1000 units	N8080247
AmpliTaq Gold™ DNA Polymerase with Gold Buffer and	250 units	4311806
${\rm MgCl}_2$	1000 units	4311816

	规格	货号
PCR(接上页)		
Platinum SuperFi II DNA 聚合酶	100 units	12361010
Platifium SuperFill DNA 泰口醇	500 units	12361050
Distinum SuperFi II DCD茲坦流	100 reactions	12368010
Platinum SuperFi II PCR预混液	500 reactions	12368050
Plotinum SuperFill Croop DCD延復落	100 reactions	12369010
Platinum SuperFi II Green PCR预混液	500 reactions	12369050
Platinum 直接 PCR通用预混液	100 reactions	A44647100
FIGURUITI 且按 FOD 通用JV/比/仪	500 reactions	A44647500
dNTP预混液(100 mM)	4 x 250μL	10297018
GINTFJU/此/文(TOO IIIIVI)	8 x 1.25 mL	10297117
ProFlex 3 x 32孔PCR系统	1台仪器	4484073
ProFlex 96孔PCR系统	1台仪器	4484075
SimpliAmp PCR仪	1台仪器	A24811
Veriti 96孔PCR仪	1台仪器	4375786
Veriti 384孔PCR仪	1台仪器	4388444
MiniAmp Plus PCR仪	1台仪器	A37835
MiniAmp PCR仪	1台仪器	A37834
自动化PCR仪,96孔	1台仪器	A31486
MicroAmp EnduraPlate光学96孔快速多色反应板,带条形码	5块板	4483493
MicroAmp光学粘性封板膜	100张	4311971
MicroAmp光学96孔反应板	10块板	N8010560
MicroAmp光学8联盖	300 strips	4323032
MicroAmp快速光学96孔反应板, 0.1 mL	10块板	4346907
MicroAmp 光学8联管, 0.2 mL	125 strips	4316567
MicroAmp快速光学8联管, 0.1 ml	125 strips	4358293
MicroAmp TriFlex 3 x 32-孔PCR板	20 块板	A32811
MicroAmp 0.2mL 连盖8联管, 圆盖	125 strips	A30589
MicroAmp 0.2mL 连盖8联管, 光学平盖	125 strips	A30588
MicroAmp EnduraPlate 硬边框光学96孔板, 透明, 半裙边, 带条形码	20 块板	4483354
MicroAmp EnduraPlate 硬边框光学96孔板, 透明, 全裙边, 带条形码	50 块板	A31728

核酸分离和分析         UltraPure溴化乙锭, 10 mg/mL       10 mL       15585011         SYBR Safe DNA凝胶染料       400 μL       S33102         SYBR Gold核酸凝胶染料       500 μL       S11494         UltraPure DNase/RNase-Free蒸馏水       10 x 500 mL       10977023         UltraPure琼脂糖       100 g       16500100         TrackIt 1 Kb Plus DNA分子量标准       100次应用       10488085         UltraPure TAE缓冲液, 10X       4L       15558026         E-Gel琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料       10块凝胶       A42135         E-GelgiRith凝胶,含SYBR Safe染料       10块凝胶       A42348         E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Gold DNA染料       10块凝胶       A42346         E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2%       18块凝胶       G661818         E-Gel EX琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2%       18块凝胶       G521802         E-Gel EX琼脂糖凝胶, 2%       10块凝胶       G401002         E-Gel I Kb Plus DNA Ladder       100次应用       10488090         E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2%       1套       G8342ST         E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, CloneWell II 0.8%       1套       G8168ST         E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2%       8块凝胶       G800802         E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%       8块凝胶       G820804 <b>PcEntal Black</b> 4%       8块凝胶       G820804
SYBR Safe DNA凝胶染料       400 μL       S33102         SYBR Gold核酸凝胶染料       500 μL       S11494         UltraPure DNase/RNase-Free蒸馏水       10 x 500 mL       10977023         UltraPure琼脂糖       100 g       16500100         TrackIt 1 Kb Plus DNA分子量标准       100次应用       10488085         UltraPure TAE缓冲液, 10X       4L       15558026         E-Gel琼脂糖凝胶, 含SYBR Safe染料       10块凝胶       A42135         E-GelQ城梳琼脂糖凝胶, 含SYBR Safe染料       10块凝胶       A42348         E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶, 含SYBR Gold DNA染料       10块凝胶       A42346         E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶, 带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2%       18块凝胶       G661818         E-Gel Ex琼脂糖凝胶, 带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2%       18块凝胶       G521802         E-Gel E RY琼脂糖凝胶, 2%       10 块凝胶       G401002         E-Gel I Kb Plus DNA Ladder       100次应用       10488090         E-Gel Fal上样缓冲液, 1X       4 x 1.25 mL       10482055         E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2%       1套       G8168ST         E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8%       1套       G8168ST         E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%       8块凝胶       G800802         E-Gel 96琼脂糖凝胶, 4%       8块凝胶       G820804         克隆和基因合成       5000802       8块凝胶       G820804
SYBR Gold核酸凝胶染料       500 μL       S11494         UltraPure DNase/RNase-Free蒸馏水       10 x 500 mL       10977023         UltraPure 琼脂糖       100 g       16500100         TrackIt 1 Kb Plus DNA分子量标准       100次应用       10488085         UltraPure TAE缓冲液, 10X       4L       15558026         E-Gel琼脂糖凝胶, 含SYBR Safe染料       10块凝胶       A42135         E-Gel双梳琼脂糖凝胶, 含SYBR Safe染料       10块凝胶       A42348         E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶, 含SYBR Gold DNA染料       10块凝胶       A42346         E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶, 带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2%       18块凝胶       G661818         E-Gel pel EX琼脂糖凝胶, 带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2%       18块凝胶       G401002         E-Gel I Kb Plus DNA Ladder       100次应用       10482055         E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2%       1套       G8342ST         E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8%       1套       G8168ST         E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2%       8块凝胶       G800802         E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%       8块凝胶       G700802         E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4%       8块凝胶       G820804         克隆和基因合成       5000       5000       5000         E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4%       8块凝胶       G820804
UltraPure DNase/RNase-Free蒸馏水 10 x 500 mL 10977023 UltraPure琼脂糖 100 g 16500100 TrackIt 1 Kb Plus DNA分子量标准 100次应用 10488085 UltraPure TAE缓冲液,10X 4L 15558026 E-Gel琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42135 E-Gel双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42348 E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Gold DNA染料 10块凝胶 A42346 E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染 料,0.8% 8块凝胶 G661818 E-Gel EX琼脂糖凝胶,常SYBR Safe DNA凝胶染料,2% 18块凝胶 G521802 E-Gel EX琼脂糖凝胶,2% 10 块凝胶 G401002 E-Gel I Kb Plus DNA Ladder 100次应用 10488090 E-Gel祥品上样缓冲液,1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装,EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装,CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G800802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G820804 <b>克隆和基因合成</b>
UltraPure琼脂糖 100 g 16500100 Trackit 1 Kb Plus DNA分子量标准 100次应用 10488085 UltraPure TAE缓冲液,10X 4L 15558026 E-Gel琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42135 E-Gel双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42348 E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Gold DNA染料 10块凝胶 A42346 E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,0.8%
TrackIt 1 Kb Plus DNA分子量标准 100次应用 10488085 UltraPure TAE缓冲液, 10X 4L 15558026 E-Gel琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42135 E-Gel双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42348 E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Gold DNA染料 10块凝胶 A42346 E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,0.8% 18块凝胶 G661818 E-Gel琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,2% 18块凝胶 G521802 E-Gel EX琼脂糖凝胶,2% 10块凝胶 G401002 E-Gel 1 Kb Plus DNA Ladder 100次应用 10488090 E-Gel样品上样缓冲液,1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装,EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳风器入门套装,CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,4% 8块凝胶 G820804 <b>克隆和基因合成</b>
UltraPure TAE缓冲液,10X  E-Gel琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料  10块凝胶  A42135  E-Gel双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料  10块凝胶  A42348  E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Gold DNA染料  E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,0.8%  E-Gel琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,2%  E-Gel琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,2%  E-Gel EX琼脂糖凝胶,2%  E-Gel EX琼脂糖凝胶,2%  E-Gel 1 Kb Plus DNA Ladder  100次应用  10488090  E-Gel样品上样缓冲液,1X  4 x 1.25 mL  10482055  E-Gel Power Snap电泳系统入门套装,EX 2%  1套  G8168ST  E-Gel 48琼脂糖凝胶,2%  B块凝胶  G800802  E-Gel 96琼脂糖凝胶,2%  B块凝胶  G700802  E-Gel 48琼脂糖凝胶,2%  B块凝胶  G820804 <b>克隆和基因合成</b>
E-Gel琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42348 E-Gel X 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Gold DNA染料 10块凝胶 A42346 E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,10块凝胶 G661818 E-Gel GlineWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,2% 18块凝胶 G521802 E-Gel EX 环糖糖凝胶,2% 10 块凝胶 G401002 E-Gel I Kb Plus DNA Ladder 100次应用 10488090 E-Gel样品上样缓冲液,1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装,EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装,CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G820804 克隆和基因合成
E-Gel 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Safe染料 10块凝胶 A42348 E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶,含SYBR Gold DNA染料 10块凝胶 A42346 E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,0.8% 18块凝胶 G661818 E-Gel琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料,2% 18块凝胶 G521802 E-Gel EX琼脂糖凝胶,2% 10块凝胶 G401002 E-Gel I Kb Plus DNA Ladder 100次应用 10488090 E-Gel样品上样缓冲液,1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装,EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装,CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶,4% 8块凝胶 G820804
E-Gel EX 双梳琼脂糖凝胶, 含SYBR Gold DNA染料 10块凝胶 A42346 E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶, 带SYBR Safe DNA凝胶染料, 0.8% E-Gel琼脂糖凝胶, 带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2% 18块凝胶 G521802 E-Gel EX琼脂糖凝胶, 2% 10 块凝胶 G401002 E-Gel I Kb Plus DNA Ladder 100次应用 10488090 E-Gel样品上样缓冲液, 1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4% 8块凝胶 G820804 <b>克隆和基因合成</b>
E-Gel CloneWell II琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料, 0.8% E-Gel琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2% 18块凝胶 G521802 E-Gel EX琼脂糖凝胶, 2% 10 块凝胶 G401002 E-Gel 1 Kb Plus DNA Ladder 100次应用 10488090 E-Gel样品上样缓冲液, 1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G800802 E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4% 8块凝胶 G820804 克隆和基因合成
料, 0.8%18块凝胶G661818E-Gel琼脂糖凝胶,带SYBR Safe DNA凝胶染料, 2%18块凝胶G521802E-Gel EX琼脂糖凝胶, 2%10 块凝胶G401002E-Gel I Kb Plus DNA Ladder100次应用10488090E-Gel样品上样缓冲液, 1X4 x 1.25 mL10482055E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2%1套G8342STE-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8%1套G8168STE-Gel 48琼脂糖凝胶, 2%8块凝胶G800802E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%8块凝胶G700802E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4%8块凝胶G820804克隆和基因合成
E-Gel EX琼脂糖凝胶, 2%  E-Gel I Kb Plus DNA Ladder  100次应用  10488090  E-Gel样品上样缓冲液, 1X  4 x 1.25 mL  10482055  E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2%  1套  G8342ST  E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8%  1套  G8168ST  E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2%  8块凝胶  G800802  E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%  8块凝胶  G700802  E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4%  \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$\$ \$
E-Gel 1 Kb Plus DNA Ladder 100次应用 10488090 E-Gel样品上样缓冲液, 1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G800802 E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4% 8块凝胶 G820804 克隆和基因合成
E-Gel样品上样缓冲液, 1X 4 x 1.25 mL 10482055 E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G800802 E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4% 8块凝胶 G820804 克隆和基因合成
E-Gel Power Snap电泳系统入门套装, EX 2% 1套 G8342ST E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8% 1套 G8168ST E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G800802 E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2% 8块凝胶 G700802 E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4% 8块凝胶 G820804 克隆和基因合成
E-Gel Power Snap电泳仪器入门套装, CloneWell II 0.8%1套G8168STE-Gel 48琼脂糖凝胶, 2%8块凝胶G800802E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%8块凝胶G700802E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4%8块凝胶G820804克隆和基因合成
E-Gel 48琼脂糖凝胶, 2%8块凝胶G800802E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%8块凝胶G700802E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4%8块凝胶G820804克隆和基因合成
E-Gel 96琼脂糖凝胶, 2%8块凝胶G700802E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4%8块凝胶G820804克隆和基因合成
E-Gel 48琼脂糖凝胶, 4% 8块凝胶 G820804 <b>克隆和基因合成</b>
克隆和基因合成
Anza 10-Pack λ 门套装 1/GN3006
74124 TO 1 4010 (1) JAX
Anza 5-Pack入门套装 1套 IVGN3004
Anza 10X缓冲液套装         2000次反应         IVGN2008
Anza T4 DNA连接酶预混液 50次反应 IVGN2104
200次反应 IVGN2108
Anza碱性磷酸酶 500次反应 IVGN2204
2000次反应 IVGN2208
Anza T4 PNK试剂盒 50次反应 IVGN2304
Anza DNA平端化试剂盒 100次反应 IVGN2404
Anza DNA末端修复试剂盒 20次反应 IVGN2504
TOPO TA克隆试剂盒, 用于亚克隆, 不含感受态细胞 25次反应 450641
Zero Blunt TOPO PCR克隆试剂盒, 不含感受态细胞25次反应450245

	规格	货号
克隆和基因合成 (接上页)		
pENTR/D-TOPO克隆试剂盒, 含One Shot TOP10化学感受态大肠杆菌	20次反应	K240020
pcDNA 6.2/V5-PL-DEST哺乳动物表达载体	6 µg	12537162
One Shot TOP10化学感受态大肠杆菌	20次反应	C404003
One Shot Stbl3化学感受态大肠杆菌	20 x 50 μL	C737303
MAX Efficiency DH5 α 感受态细胞	200 μL	18258012
ElectroMAX DH10B细胞	100 μL	18290015
MAX Efficiency Stbl2感受态细胞	5 x 200 μL	10268019
MultiShot TOP10化学感受态大肠杆菌	5块板	C40005
MultiShot StripWell TOP10化学感受态大肠杆菌	1 rack	C409601
MultiShot StripWell BL21 Star (DE3)化学感受态大肠杆菌	1 rack	C609601
MultiShot FlexPlate TOP10化学感受态大肠杆菌	1块板	C4081201
MultiShot FlexPlate DH5α TIR化学感受态大肠杆菌	1块板	C4481201
MultiShot FlexPlate Stbl3化学感受态大肠杆菌	1块板	C7381201
GeneArt Gibson Assembly HiFi 克隆试剂盒, 含化学感受态细胞	10 次反应	A46624
GeneArt Gibson Assembly EX 克隆试剂盒, 含化学感受态细胞	10 次反应	A46633
GeneArt Seamless PLUS克隆与组装试剂盒	20 次反应	A14603
GeneArt Type IIs组装试剂盒, Aarl	10 次反应	A15916
GeneArt Type IIs组装试剂盒, Bsal	10 次反应	A15917
GeneArt Type IIs组装试剂盒, Bbsl	10 次反应	A15918
GeneArt High-Order基因组装系统	10 次反应	A13285
Gateway BP Clonase II酶混合物	20 次反应	11789020
Gateway LR Clonase II酶混合物	20 次反应	11791020
MultiSite Gateway Pro Plus	20 次反应	12537100
LR Clonase II Plus酶	20 次反应	12538120
Gateway载体转化系统, 含One Shot ccdB Survival细胞	1 kit	11828029
采用Gateway技术的PCR克隆系统, 含pDONR 221和 OmniMAX 2感受态细胞	20 次反应	12535029
采用Gateway技术的PCR克隆系统,含pDONR/Zeo和 OmniMAX 2感受态细胞	20 次反应	12535037
Gateway pDONR 221载体	6 µg	12536017
pENTR/D-TOPO克隆试剂盒, 含One Shot TOP10化学感受态大肠杆菌	20 次反应	K240020
pCR 8/GW/TOPO TA克隆试剂盒, 含One Shot TOP10大肠 杆菌	20 次反应	K250020



## 赛默飞世尔科技

#### 上 海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼邮编 201206

电话 021-68654588\*2570

生命科学产品和服务业务 上海市长宁区仙霞路99号21-22楼 邮编 200051

电话 021-61453628 / 021-61453637

#### 北京

电话 010-87946888

北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心C座7层/8层邮编 100000

#### 广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景星辉广场北塔204-206 单元邮编 510000 电话 020-82401600

## 成 都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406 室邮编 610041 电话 028-65545388\*5300

#### 南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室邮编 210000 电话 021-68654588\*2901

#### 沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109 室邮编 110013 电话 024-31096388\*3901

#### 武 汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路生物医药园C8栋5楼邮编 430075 电话 027-59744988\*5401

#### 西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦 1006-08单元 邮编 710075 电话 029-84500588\*3801

#### 昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字 楼908单元 邮编 650021 电话 0871-63118338\*7001

欲了解更多信息,请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息,说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

## 详情请访问 thermofisher.com/amplifly



多黒飞

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱: cnbidmarketing@thermofisher.com

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. © 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. Ensembl is a trademark of Genome Research Limited. TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc., used under permission and license. TRIzol and DNAzol are trademarks of Molecular Research Center. Inc.

