

## 寡核苷酸退火缓冲液使用说明书

### 【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-8467	Annealing buffer, 10×	1ml/5ml
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

-20 °C保存，有效期 12 个月

### 【概述】

本品适用于小片段(5-500bp)单链 DNA 的杂交反应，获得更优质的杂交双链 DNA 片段，如 shRNA、gRNA 载体等构建。

### 【操作方法】

#### I. 体系配制（如下 20 μl 体系为例）

Reagent 试剂	Amount 试剂量
正链 Oligo(10μM)	5μl
负链 Oligo(10μM)	5μl
ddH <sub>2</sub> O	8 μl
Annealing Buffer(10x)	2μl
	20μl

#### II. 退火条件

##### A. 水浴锅或 Heat Block

1. 在微管中混合等体积的等摩尔寡核苷酸。
2. 将微管在 95°C 下孵育 5 分钟。
3. 让微管缓慢冷却至室温(注：若水浴等水温升至最高后加入，勿中途取出)。

##### B. PCR（热循环）仪(可选择简易步骤或进阶步骤的其中一种使用)

		Cycles	Temperature	Time
Simple Protocol 简易步骤	Step 1:	1	95°C	5 min
	Step 2:	70	95°C (-1°C/cycle )	1 min
	Step 3:		4°C	HOLD

		Cycles	Temperature	Time
<i>Advanced Protocol</i>	Step 1:	1	95°C	5 min
<i>进阶操作步骤</i>	Step 2:	40*	95°C (-1°C/cycle )	1 min
<i>(以T<sub>m</sub> 值55°C 为</i>	Step 3:	1	55°C	30min
<i>例)</i>	Step 4:	20	55°C* (-1°C/cycle )	1min
	Step 5:		4°C	HOLD

\*步骤 2 和 4 中的循环数取决于要退火的寡核苷酸的 T<sub>m</sub>。

### 【注意事项】

1. 如果每次的使用量很小，可以适当分装后再使用，以免污染。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。