

CAT#:D020501

即用型易错 PCR 试剂盒
Error Prone PCR Kit

使用手册 V3.0



产品及特点

易错 PCR 是在采用 DNA 聚合酶进行目的基因扩增时, 通过调整反应条件来改变扩增过程中的突变频率, 从而以一定的频率向目的基因中随机引入突变, 获得蛋白质分子的随机突变体。其关键在于对合适突变频率的选择, 突变频率太高会导致绝大多数突变为有害突变, 无法筛选到有益突变; 突变频率太低则会导致文库中全是野生型群体。本产品基于以上原理研制。它具有下列特点:

1. 操作简便;
2. 突变没有趋向性, 突变率稳定, 突变率为 0.66%;
3. 本产品只适用于扩增 1kb 以下的产物, 对于 1kb 以上的产物, 建议分段扩增。
4. 可用于连续易错 PCR (sequential error-prone PCR)。

成分规格

产品组成	规格 (100T)
2× Error Prone PCR Mix	1.5 mL
10× MnCl ₂	300 μL

保存条件

-20℃可保存 12 个月。

使用方法

1. 易错PCR体系

推荐反应体系 (30 μl)

试剂	用量
模板 DNA	10-100 ng
Primer F (10 μM)	1 μl
Primer R (10 μM)	1 μl
2× Error Prone PCR Mix	15 μl
10× MnCl ₂	3 μl

ddH₂OUp to 30 μ l

2. 易错PCR程序

按用户已经优化的PCR条件进行一定循环数的PCR，如果没有优化的PCR条件，可先尝试下面的PCR程序。

	过程	温度	时间
	预变性	94℃	3 min
30-60 cycles	变性	94℃	30 sec
	退火	45℃	30 sec
	延伸	72℃	1 min/kb

3. 结果检测：反应结束后取5 μ l反应产物，加入适量上样缓冲液，然后进行琼脂糖凝胶电泳，检测是否得到预期片段大小的PCR产物。
4. 胶回收易错PCR扩增产物、克隆并对单菌落进行功能筛选或测序分析、如果需要增加突变率，可以突变后的DNA为模板，进行连续易错PCR。

关联产品

产品编号	产品名称
D070101-500	GeneRed 核酸染料
D070102-500	Geneblue 核酸染料
D070104	6×Loading Buffer
D070105	50×TAE
D070106	10×TBE
D010601-50	DNA 产物纯化试剂盒
D010602-50	DNA 片段凝胶回收试剂盒
D010603-50	通用型 DNA 纯化回收试剂盒
D010604-50	磁珠法 DNA 片段凝胶回收试剂盒
D010605-50	磁珠法 DNA 产物纯化试剂盒