



寡核苷酸池（Oligo Pool）使用注意事项

寡核苷酸池（或引物池）是一种可被用于基因组学研究中的通用的、新颖的定制化产品。我们将成千上万条寡核苷酸序列一次性地在一个微阵列芯片上同步大量合成，然后将合成的寡核苷酸切下来溶解在单个小管里。标准化的 DMT 化学合成过程确保了每一步偶联的高效率，以及最终产物的高质量。产品最终是以单个小管内的核苷酸池的形式提供给客户，您拿到产品后可以直接在实验中使用。

对于实际中诸如突变文库这种应用来说，可能需要更大量的序列。这个可以很容易地通过在序列的特定位点上使用设计好的简并碱基来实现。

重要提示——用户需要注意的是，引物池中每条序列的数量都很少，产品也没有经过纯化处理。因此，该产品可能与单独合成的寡核苷酸的混合物有不同的表现。一个 4K 芯片的产量通常每条序列只有数十埃摩尔（attomole），而每管只有亚皮摩尔（sub-picomole）数量级。

重要提示——与所有标准的寡核苷酸合成方法一样，最终产品的产量和质量取决于序列长度、序列组成、序列的二级结构，合成试剂的不同批次以及其他因素。

由于合成规格太小，产量通常很低，所以，除非特殊情况，我们推荐在使用之前请将未经处理的寡核苷酸池进行扩增。

通过使用 Qubit 进行荧光测定，我们得知可扩增材料的浓度数级为 ng/μL。全长序列的数量可以通过可扩增材料的数量推测出来，进一步可以直接用来推断出 PCR 反应中需要多少起始材料。

我们有一些关于引物设计和寡核苷酸池扩增的基本使用指南。但是，由于每个客户的需求都是独一无二的，这些指南不是一个特定的操作方法，只能作为一般性的指导方针。

1. 在使用前，往序列中加入一组通用引物进行 PCR 扩增。扩增的另一个好处是起到了纯化的效果，因为一些失败的序列在这个过程中不会被扩增。
2. 我们建议使用高 Tm 值或者长引物，这样就可以设定更高的退火温度。通常来说，较高的退火温度可以提高引物结合特异性。
3. 对于 PCR 扩增，我们推荐使用热启动酶，Fusion，Q5，PFU，Vent，和 Platinum 是几种熟知的可选用的酶，不推荐使用普通的 Taq 酶。具体使用什么聚合酶要依据具体情况而定。在选用酶的时候需要很谨慎，应该对几种酶进行测试。
4. 因为每个客户的序列长度、引物设计、聚合酶都不同，因此推荐的模板起始使用量都不同。因此，我们推荐先进行一个预实验，设置梯度，分别以总体积的 1/100，1/400，1/1600，1/6400，以及 1/25600 作为 PCR 反应的模板。经过一定循环数后（比如 25



个循环)，用凝胶电泳或者生物分析仪器测量 PCR 产物的量，然后决定合适的模板量，即选用能够产生足够产物，但尽可能少的模板用量。

5. 如果要从产物中提取多组序列，首先使用巢式 PCR 扩增所有的序列，然后使用内引物去扩增单独的组别。在第一轮 PCR 中试图提取多个组很可能无法得到满意的结果。
6. 去除引物的策略选择要依之后的实验目的而定。比如，平端 vs 粘性末端。
7. 对于一般的克隆，您可以通过在普通引物中加入一个能被 III 类限制性内切酶识别的限制性位点来去除扩增后剩余的普通引物。这种酶会在一个与识别位点距离很近的位点进行切除，这样能够保证序列的完整性。在限制性酶切以后，寡核苷酸序列就可以插入到载体中了。

北京赛百盛基因技术有限公司

全国统一热线：400 666 3029

地址：北京市海淀区上地四街 1 号院 2 号楼 202 室 邮编：100085

电话：010-62969345/46, 010-82784296/92 传真：010-82784290

Email: info@sbsbio.com

<http://www.sbsbio.com>