

二、PCR

一) DRD4 基因第 3 外显子片段引物:

VNTR-F1 TGCGCTACAACCGGCAGGGT

VNTR-R1 TCTGCGGTGGAGTCTGGGGTG

ccccccgcgcctcaccgcggcctgtgcgtgtccggcgccccctcggcgctccccgcagGTTTCGTGGCCGTGGCCG
TGCCGCTGCGCTACAACCGGCAGGGTGGGAGCCGCCGCGCAGCTGCTGCTCATCGGCG
CCACGTGGCTGCTGTCCGCGGCGGTGGCGGCGCCCGTACTGTGCGGCCTCAACGACG
TGCGCGGCCGCGACCCCGCCGTGTGCCGCCTGGAGGACCGCGACTACGTGGTCTACT
CGTCCGTGTGCTCCTTCTTCCCTACCCTGCCCGCTCATGCTGCTGCTCTACTGGGCCACG
TTCCGCGGCCTGCAGCGCTGGGAGGTGGCACGTGCGGCCAAGCTGCACGGCCGCGCG
CCCCGCCGACCCAGCGGCCCTGGCCCCGCTTCCCCACGCCACCCGCGCCCCGCCTCC
CCCAGGACCCCTGCGGCCCGACTGTGCGCCCCCGCGCCCGGCCTTCCCCGGGGTCC
CTGCGGCCCGACTGTGCGCCCGCCGCGCCAGCCTCCCCAGGACCCCTGCGGCCCG
GACTGTGCGCC **CCCCGCGCCCGGCCTCCCCCGGACCCCTGCGGGTCCAACTGT**
GCTCCCCCCGACCCGTCAGAGCCCGCGCTCCCACCCAGACTCCACCGCAGACC
CGCAGGAGGCGGCGTGCCAAGATCACCGGCCGGGAGCGCAAGGCCATGAGGGTCCT
GCCGGTGGTGGTTCGgtgggttctgtctgagggcggggaggagaggagg

1、体系 20ul

2*GC1 Buffer	10ul
dNTP	2ul
primers (F+R, 10uM)	0.4ul
HotStart taq	0.1ul
DNA	30ng (1ul)
ddH ₂ O	6.5ul

2、程序

95°C	5min	
95°C	30sec	} 32cycles
71.5°C	30sec	
72°C	1min	
72°C	3min	
4°C	hold	

二)、琼脂糖凝胶电泳

1、配置琼脂糖凝胶 (1%) (以配置 100ml 琼脂糖凝胶为例)

1) 称取 1g 琼脂糖, 倒入锥形瓶中;

2) 加 100ml 1*TAE, 摇晃均匀, 放入微波炉中加热至琼脂糖完全溶解 (其间可取出锥形瓶摇几次, 以促进琼脂糖溶解);

3) 取出锥形瓶, 待瓶身温度降至 50 度左右时 (以不烫手为准), 加入 1-2ul 荧光染料, 摇匀;

4) 倒入制胶板中, 插上梳子, 待其凝固。

2、电泳

1) 从胶板上取下凝胶, 在 1*TAE 中浸泡使胶孔中充满 1*TAE (可直接在电泳槽中加样, 也可把凝胶取出加样);

2) 将 PCR 产物与 6*Loading Buffer 充分混匀;

3) 将混合液加至凝胶孔中 (注意留出加 marker 的孔);

4) 加 marker (根据片段大小选择合适大小的 marker);

5) 选择合适的电压开始电泳 (一般选择 160V, 10-15min);

6) 停止电泳, 在凝胶成像仪上观察并拍照。