

# 重叠延伸 PCR 实验

重叠延伸 PCR 技术 (gene splicing by overlap extension PCR, 简称 SOEPCR) 由于采用具有互补末端的引物, 使 PCR 产物形成了重叠链, 从而在随后的扩增反应中通过重叠链的延伸, 将不同来源的扩增片段重叠拼接起来。

## 实验方法原理:

此技术利用 PCR 技术能够在体外进行有效的基因重组, 而且不需要内切酶消化和连接酶处理, 可利用这一技术很快获得其它依靠限制性内切酶消化的方法难以得到的产物。重叠延伸 PCR 技术成功的关键是重叠互补引物的设计。重叠延伸 PCR 在基因的定点突变、融合基因的构建、长片段基因的合成、基因敲除以及目的基因的扩增等方面有其广泛而独特的应用。

## 实验材料:

基因样品

## 仪器、耗材:

PCR 仪

## 实验步骤:

1. 以引物 a/b 进行 pcr1。
2. 以引物 c/d 进行 pcr2。
3. 引物 b/c 中引入了需要的限制性位点。
4. 混合二者 pcr 产物, 混合以前最好回收一下。

5. 进行 pcr 延伸反应，只有右面这个可以延伸。
6. 以延伸反应的产物为模板，以 a/d 为引物进行 pcr。
7. 产物即为所需最终产物。

