

小鼠抗体 ScFv 基因扩增试剂盒

(货号: P001Z)

一、包装清单

管号	名称	内容	规格
1#	MVH Mix	小鼠抗体重链扩增体系	100 μ L
2#	MVL Mix	小鼠抗体轻链扩增体系	100 μ L
3#	DNA Polymerase	DNA 聚合酶	2 μ L
4#	Positive control	阳性对照	2 μ L
5#	ScFv Mix	ScFv 连接扩增体系	100 μ L
6#	ScFv Enhancer Mix	ScFv 增强体系	100 μ L

二、产品简介

本试剂盒可以用于对杂交瘤、小鼠外周血单个核细胞、小鼠脾细胞及小鼠其他组织中抗体可变区基因的扩增和调取。相关标本前期需经过 mRNA 提取和用 oligo dT 为引物反转录成 cDNA。本试剂盒优化了扩增体系中的组分，既保证了扩增的特异性，又扩大了对所有抗体基因的兼容性。一步 PCR 分别扩增 VH 和 VL，再一步 PCR 将二者连接成 ScFv。连接成的 ScFv 适合直接克隆到原核或者真核表达载体中进行表达，或小鼠抗体文库的构建、基因工程抗体改造、CAR(Chimeric Antigen Receptor T-Cell) 载体构建等。

三、产品特点

简单快速：一步扩增抗体基因，一步连接成 ScFv；

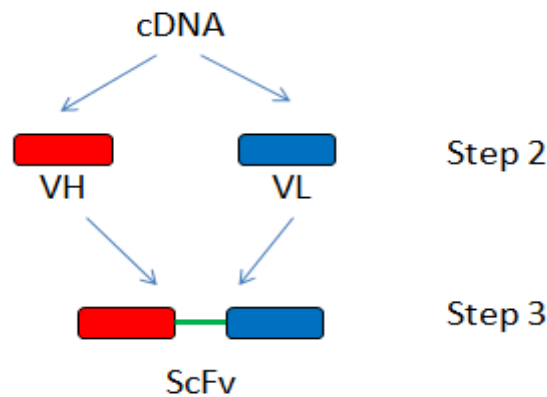
特异性好：仅抗体可变区得到扩增，无无关基因干扰；

兼容性强：可扩增绝大部分抗体基因，保持了抗体的多样性；ScFv 适用于原核或真核表达系统；

四、注意事项

- 1、试剂避免反复冻融，否则会影响扩增效率；
- 2、建议采用新鲜标本的 cDNA 为模板
- 3、所有试剂保存条件为-20 $^{\circ}$ C
- 4、仅供科研使用

五、操作步骤



1、所有试剂融化后瞬时离心并放置于冰上

2、扩增抗体重链和轻链基因

2.1 按下列组分配制反应体系（以 50 μ L 为例）

名称	体积(μ L)
MVH Mix(Vial 1#) /MVL Mix(Vial 2#)	45
DNA Polymerase	0.3
cDNA	a(含 10-500ng DNA,约 0.2-1 μ L)
H ₂ O	4.7-a

如需做阳性对照，将 cDNA 换成 0.5 μ L Positive control（Vial 4#）即可。
按下列条件扩增

Temp	Time	Cycles
94 $^{\circ}$ C	3min	1
94 $^{\circ}$ C	30s	
52-56 $^{\circ}$ C	30s	30
72 $^{\circ}$ C	45s	
72 $^{\circ}$ C	10min	1
4 $^{\circ}$ C	∞	1

2.2 PCR 产物过 2% 琼脂后，回收 330bp 左右的条带

3. 连接 ScFv

3.1 按下列组分配制反应体系（以 50 μ L 为例）

名称	体积(μ L)
ScFv Mix (Vial 5#)	45
DNA Polymerase	0.3
VH	a(含 10-20ng DNA)
VL	b(含 10-20ng DNA)
H ₂ O	4.7-a-b

按下列条件扩增

Temp	Time	Cycles
94°C	3min	1
94°C	30s	
52-56°C	30s	30
72°C	45s	
72°C	10min	1
4°C	∞	1

3.2 PCR 产物过 2% 琼脂后，回收 700bp 左右的条带，进行 TA 克隆后即可得到 ScFv 片段。

4. 可选择步骤（当上述步骤扩增的 ScFv 条带出现杂带、弥散或者 700bp 左右的条带较弱，需要增加 ScFv 产量时可进行此步骤）

4.1 回收步骤 3 中 700bp 的条带作为模板

4.2 按下列组分配制反应体系（以 50 μ L 为例）

名称	体积(μ L)
ScFv Enhancer Mix (Vial 6#)	45
DNA Polymerase	0.3
ScFv(步骤 3 回收)	a(含 10-20ng DNA)
H ₂ O	4.7-a

按下列条件扩增

Temp	Time	Cycles
94°C	3min	1
94°C	30s	
56°C	30s	30
72°C	45s	
72°C	10min	1
4°C	∞	1

4.3 PCR 产物过 2% 琼脂后，回收 700bp 左右的条带，进行 TA 克隆后即可得到 ScFv 片段。