

案例二：高保真酶扩增人线粒体全长 DNA

[数据提供：复旦大学附属眼耳鼻喉科医院，纪老师，主攻与听觉医学相关的各种疾病，包括遗传性耳聋相关基因检测及检测结果分析]

目的：

从病人血液样本中提取线粒体 DNA，并扩增线粒体全长，以鉴定病人的线粒体 DNA 是否有大片段缺失。

案例材料：

五份血液样本 DNA (15ng/μL 左右)

2×G5 High-Fidelity PCR Mix (NovaBio # G301)

引物：

Forward primer: CCGCACAAGAGTGCTACTCTCCTC (Tm : 64.5°C/Primer5 计算，正常产物长度：16569bp)

Reverse primer: GATATTGATTCACGGAGGATGGTG (Tm : 63.8°C/Primer5 计算)

体系：

ddH ₂ O	6.4 μl
2 × G5 High-Fidelity PCR Mix	10 μl
模板	2 μl
上游引物+下游引物	0.8 μl + 0.8 μl

PCR 程序：

95°C 3min

95°C 15sec

57°C 15sec

72°C 8min

72°C 10min

} 35 cycle

结果：

