

Notice: This page will be replaced with beta.uniprot.org. Please send us your feedback!

Search for



Swiss-Prot
Protein knowledgebase
TrEMBL
Computer-annotated supplement to Swiss-Prot



The UniProt Knowledgebase consists of:

- **UniProtKB/Swiss-Prot**, a curated protein sequence database which strives to provide a high level of annotation (such as the description of the function of a protein, its domains structure, post-translational modifications, variants, etc.), a minimal level of redundancy and high level of integration with other databases [[More details / References / Linking to Swiss-Prot / User manual / Recent changes / Disclaimer](#)].
- **UniProtKB/TrEMBL**; a computer-annotated supplement of Swiss-Prot that contains all the translations of EMBL nucleotide sequence entries not yet integrated in Swiss-Prot.

These databases are developed by the Swiss-Prot groups [at SIB](#) and [at EBI](#).

UniProt Knowledgebase Release 12.6 consists of:

UniProtKB/Swiss-Prot Release 54.6 of 04-Dec-2007: 290484 entries ([More statistics](#))

UniProtKB/TrEMBL Release 37.6 of 04-Dec-2007: 5072048 entries ([More statistics](#))

> **Swiss-Prot headlines**

Complete proteome for Arabidopsis thaliana in UniProtKB ([Read more...](#))

Access to the UniProt Knowledgebase

- **SRS** - Access to UniProtKB/Swiss-Prot, UniProtKB/TrEMBL and other databases using the Sequence Retrieval System
- **Full text search** in the UniProt Knowledgebase
- **Advanced search in the UniProt Knowledgebase** by description, gene name and organism (can be used to create html links to UniProt Knowledgebase queries)
- **Taxonomy browser (NEWT)**
- **BLAST** similarity search

- **by description or identification** (any word in the DE, OS, OG, GN and ID lines)
- **by citation** (RL line; UniProtKB/Swiss-Prot only)

- **Retrieve a list of UniProtKB entries**

This is a cached page for the URL (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi). To see the most recent version of this page, please click [here](#).

Protocol Online is not affiliated with the authors of this page nor responsible for its content.

About [Cache](#)

Primer3

pick primers from a DNA sequence (see [NEW](#))

Paste source sequence below (5'->3', string of ACGTNacgtn -- other letters treated as N -- numbers and blanks ignored). FASTA format ok. Please N-out undesirable sequence (vector, ALUs, LINES, etc.) or use a [Mispriming Library \(repeat library\)](#):

<input checked="" type="checkbox"/> Pick left primer or use left primer below.	<input type="checkbox"/> Pick hybridization probe (internal oligo) or use oligo below.	<input checked="" type="checkbox"/> Pick right primer or use right primer below (5'->3' on opposite strand).
--	--	--

[Sequence Id:](#) A string to identify your output.

[Targets:](#) E.g. 50,2 requires primers to surround the 2 bases at positions 50 and 51. Or mark the [source sequence](#) with [and]: e.g. ...ATCT[CCCC]TCAT.. means that primers must flank the central CCCC.

[Excluded Regions:](#) E.g. 401,7 68,3 forbids selection of primers in the 7 bases starting at 401 and the 3 bases at 68. Or mark the [source sequence](#) with < and >: e.g. ...ATCT<CCCC>TCAT.. forbids primers in the central CCCC.

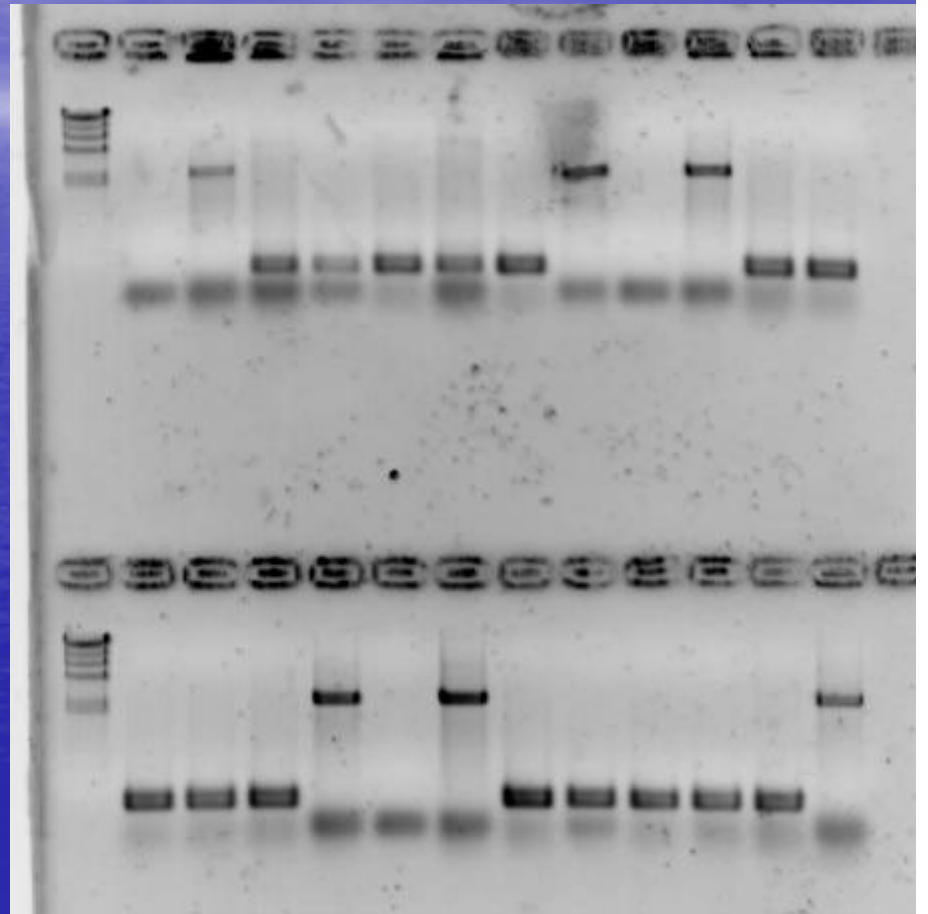
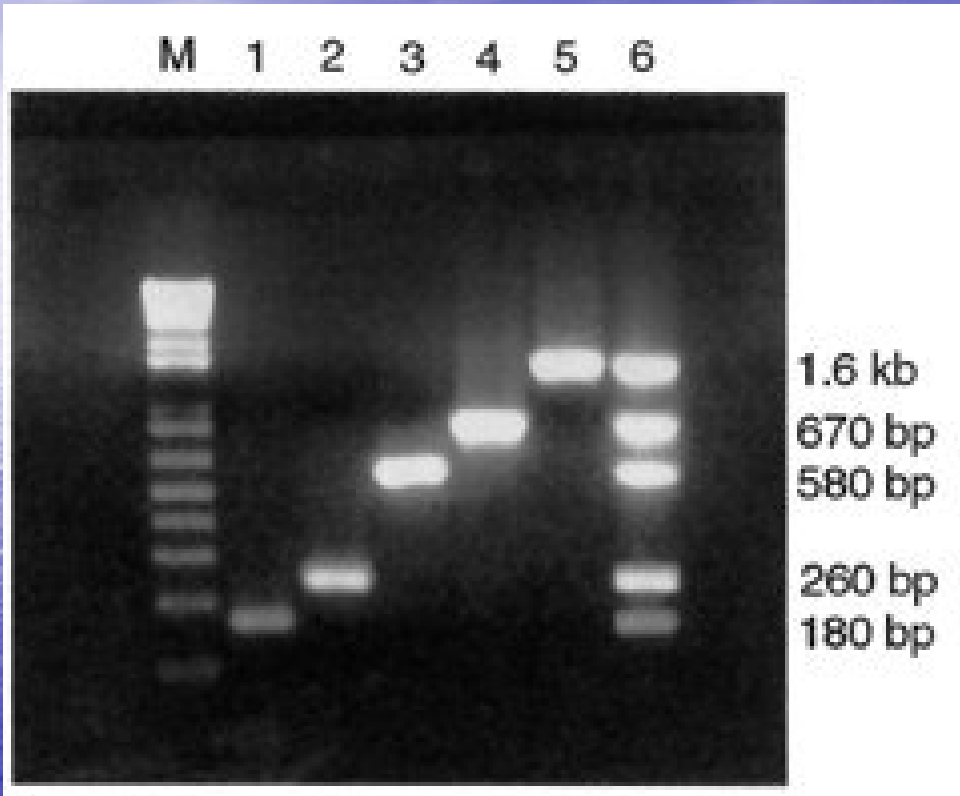
[NEW Product Size Ranges](#)

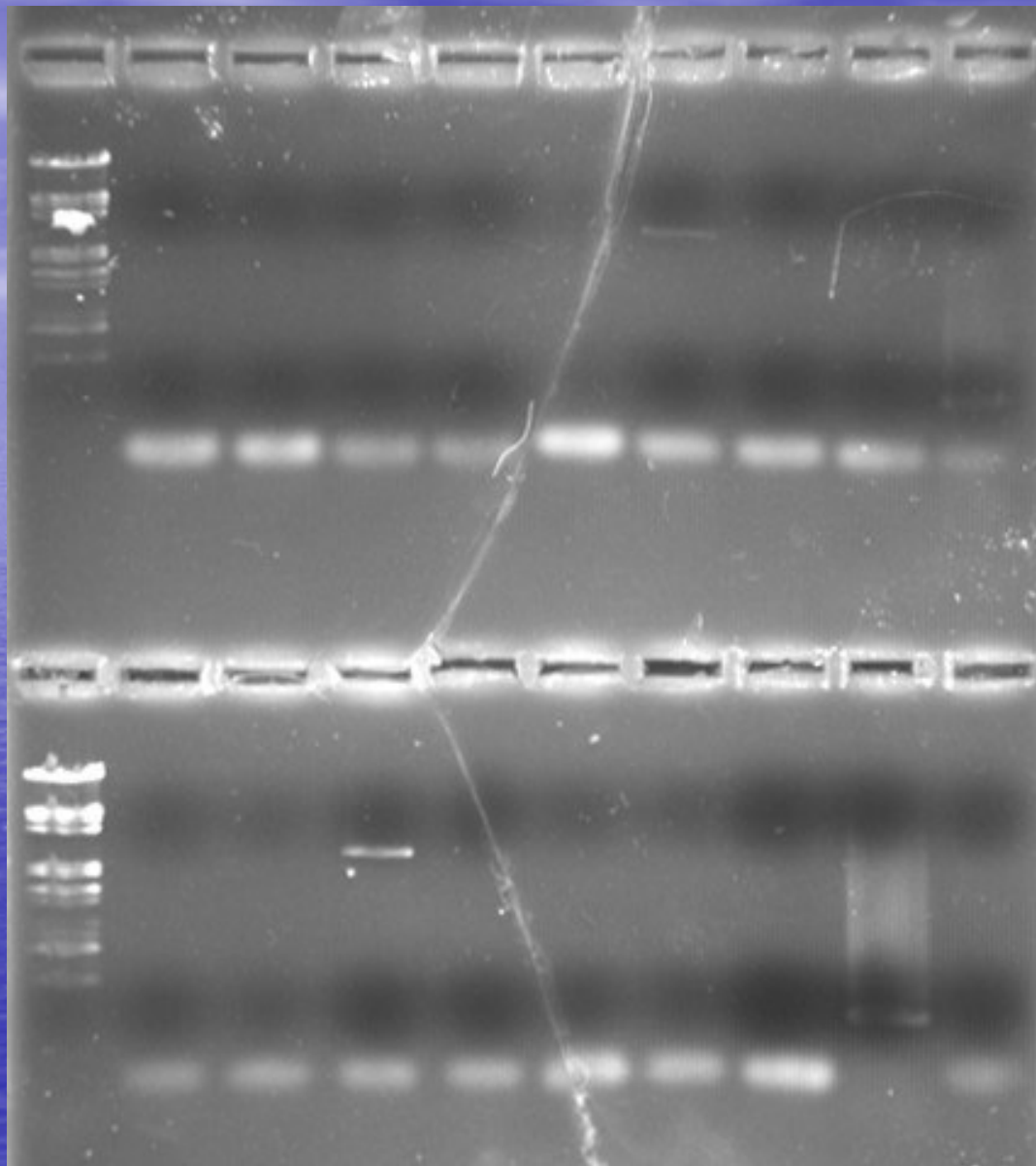
No mispriming library specified Using 1-based sequence positions

OLIGO	<u>start</u>	<u>len</u>	<u>tm</u>	<u>gc%</u>	<u>any</u>	<u>3' seq</u>	
LEFT PRIMER	244	21	60.09	42.86	5.00	1.00	gcataatcaagttgccaaagga
RIGHT PRIMER	546	21	60.20	47.62	3.00	1.00	aatgccagggttaaggattcac

SEQUENCE SIZE: 630 INCLUDED REGION SIZE: 630 PRODUCT SIZE: 303,
PAIR ANY COMPL: 4.00, PAIR 3' COMPL: 1.00 1

cacaggactggacagagatttcaaggaacacaattcagttttaccccactttcaa 61
tcacatcaaattccagcatgcttgggtcaagagaagttcagatacaccggactcggat 121
caaatctcagggttcatgggaattcattcactctgaagatgaaattgaatatgaaaac 181
caaaaaaggctggaagaagaggaggacttgaatgtgcttacattgaagatcttctttgc 241
tttgcataatcaagttgccaaaggaatggaatttctggaatttaagtcgtgtgttcacaga 301
gacctggccgccaggaacgtgcttgtcaccacgggaaagtgggtgaagatatgtgacttt 361
ggattggctcga**gataatc**atgagtgattccaactatgttgtcaggggcaatgcccgctctg 421
cctgtaaaatggatggccccgaaagcctgtttgaaggcatctacaccattaagagtgat 481
gtctggatcatatggaatattactgtgggaaatcttctcacttgggt**gtgaatccttaccct** 541
ggcattccggttgatgctaacttctacaaactgattcaaaatggatttaaaatggatcag 601
ccattttatgctacagaagaaatatacatt





AMESTEC DE REACȚIE

Component	Concentrație în amestecul final
Forward primer	1 pmol μl^{-1}
Reverse primer	1 pmol μl^{-1}
Amestec dNTP	0.2mM
Mg ²⁺	MgCl ₂ determinată prin optimizare xmM: 1mM, 1.5 mM, 2mM
Tampon polimerază	1x PCR Buffer
Polimerază	0.6u/reacție
AND template	5ng-100 ng ADN genomic / reacție

Exemplu de protocol de optimizare folosind enzima ThermoPrime Taq Polymerase :

- Se reconstituie primerii (Invitrogen) care vin liofilizați de la producător, în acord cu indicațiile firmei.

De regulă se reconstituie primerii în apă bidistilată (puritate biologie moleculară) sau în tampon 1xTE așa încât să se obțină o concentrație finală de $50 \text{ pmol}\mu\text{l}^{-1}$

EX.

Dacă primerul liofilizat are o cantitate de primer 30.9 nmoli, atunci pentru a avea o concentrație de $50 \text{ pmol}\mu\text{l}^{-1}$ ($50 \text{ nmol}/1000\mu\text{l}$) volumul de lichid adăugat este de $30.9/50 \times 1000 \mu\text{l} = 718 \mu\text{l}$ apă bidistilată (BDH) sau $718 \mu\text{l}$ 1xTE

- Se calculează volumul de primeri necesari pentru fiecare reacție așa încât în volumul final (25 μ l) să fie o concentrație de 1 pmol μ l⁻¹ din fiecare primer → 0.5 μ l
- Se calculează volumul de dNTP care trebuie adăugat așa încât să existe o concentrație optimă de 0.2 mM din fiecare dNTP în volumul final de reacție

Ex. dNTP Set de la Abgene conține tuburi din fiecare dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) cu o concentrație a respectivului dNTP de 100 mM. Se amestecă dNTP-urile așa încât se diluează de 10 x fiecare dintre ele, rezultând o concentrație de 10 mM. Din această soluție se folosesc 0.5 μ l/volum de reacție (25 μ l) așa încât concentrația fiecărui dNTP este de 0.2mM

- Se lucrează cu o soluție de MgCl_2 de 25 mM. Dacă se iau în lucru 1, 1.5 și 2 μl / reacție \rightarrow o concentrație finală de 1 mM, 1.5 mM respectiv 2 mM
- Se optimizează reacția PCR folosind 4 temperaturi diferite în funcție de T_m calculat inițial pentru primeri (sub valoarea T_m) și folosind diferite concentrații de clorură de magneziu pentru 4 probe ADN și un blank
- Se calculează volumele de reactivi necesare pentru toate cele 60 de reacții (5 probe x 4 temperaturi x 3 conc. MgCl_2)
- Se fac 3 mix-uri de reacție pentru 3 conc. de MgCl_2 după cum este redat în tabelul de mai jos:

Reactivi	Mix 1 – 1mM MgCl₂ 20 reacții	Mix 2- 1.5 mM MgCl₂ 20 reacții	Mix 3-2 mM MgCl₂ 20 reacții
Forward primer μl	x	x	X
Reverse primer μl	y	y	y
dNTP μl	10	10	10
MgCl₂ μl	20	30	40
Tampon PCR μl	50	50	50
Taq ThermoPrime μl	2.4	2.4	2.4
Apă până la volumul final de 480 μl	397.6-x-y	387.6 –x-y	377.6-x-y

Se pipetează 23 μ l de mix în fiecare dintre cele 60 de tuburi PCR

Se adaugă câte 1 μ l de ADN (sau apă pentru blank) în tuburile corespunzătoare

Se introduc tuburile în PCR în aparatul PCR și se aplică programul PCR folosind gradient PCR

Denaturare inițială	94°C	4min, 30 sec.	1
Denaturare	94°C	30 sec	30
Aliniere primeri	Identificată după optimizare	1 min	
Extensie	72°C	30 sec	
Extensie finală	72°C	5 min	1
Mentinere la 25°C	25°C	5 sec	1