

PrimerDesigner 在线 PCR 引物设计软件 操作说明书

一、软件说明

1.1 简介信息

《PrimerDesigner 在线 PCR 引物设计软件》是一款针对生物技术研发人员的专业 PCR 引物在线设计系统, 主要涉及生物信息数据的交互处理, 对源数据的深化处理, 系统具有: 引物热力学分析、引物发夹二聚体结构分析、GC 含量分析、PCR 产物大小, 引物设计参数系统设定等等功能, 此系统采用 Django 框架、bootstrap、jquery, 实现了 B/S 系统的交互通讯, 支持 SQLserver 后台数据库系统, 记录并存储引物设计的数据参数。

技术特点:

1. 采用 django 框架, 实现了客户端与服务器数据的可信传输;
2. 采用轻量级字典 (Dict) 数据交换格式传输关键参数指标数据;
3. 支持 SQLserver 后台数据库系统, 记录并存储各项引物数据。

1.2 系统背景

《PrimerDesigner 在线 PCR 引物设计软件》是一款针对生物技术研发人员的专业 PCR 引物在线设计系统, 为用户提供一个可以在线设计 PCR 引物的分析系统, 同时使用该软件进行引物的设计参数设定。需要一定专业基础人士, 熟悉 PCR 的原理和操作流程, 并对设计参数有一些基础了解, 对引物的二级结构、发夹结构、多聚体、GC 含量、Tm 值等参数进行设定并生成对应的引物序列。

1.3 运行环境

硬件环境:

CPU 主频：1GMhz 或更高；

内存容量：1GB 或更大；

硬盘容量： 500GB 或更大；

显卡：无要求；

显示器：1080*720；

声卡和音响：无要求；

软件环境：

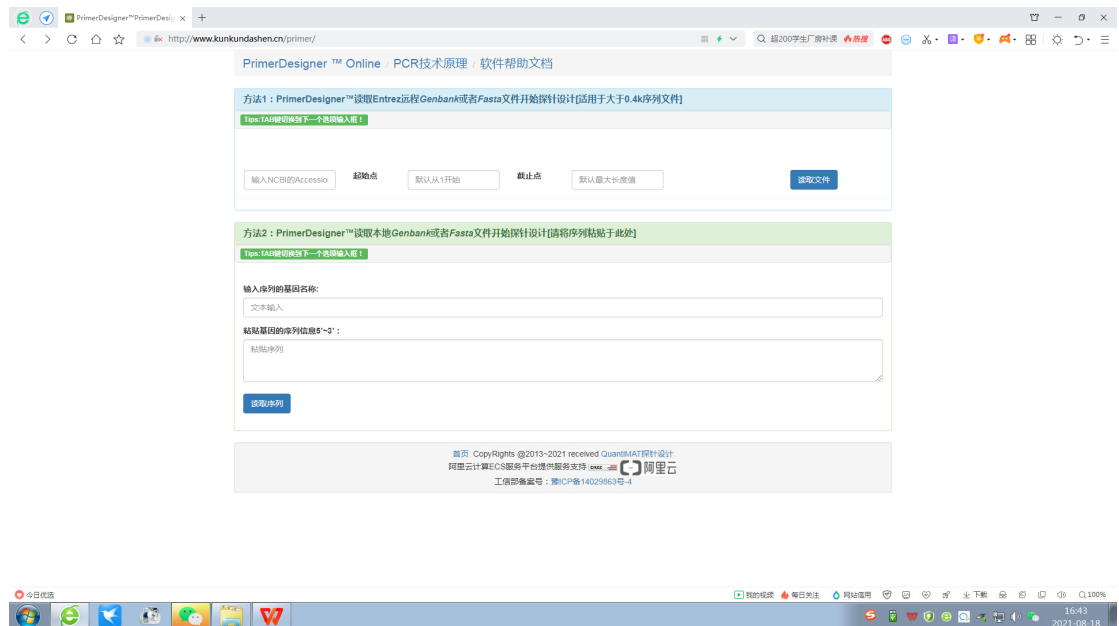
系统：Windows xp/Windows 2000/Windows 2003/Windows 7/ Windows 8

浏览器：Google Chrome 或 Microsoft Edge

二 登录说明

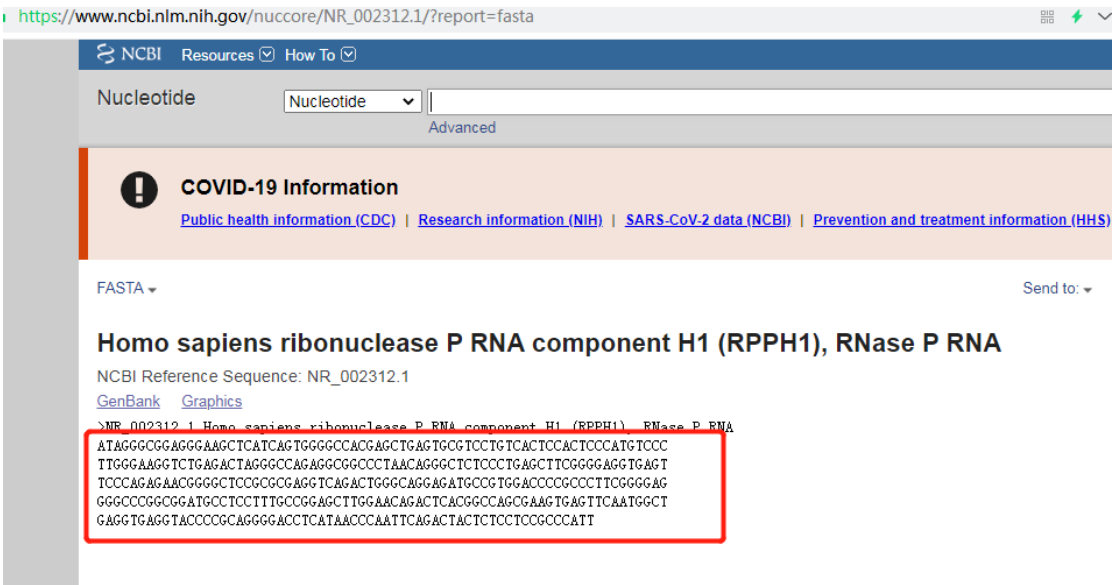
1.登录系统

浏览器中输入网址“<http://www.kunkundashen.cn/primer/>”回车进入系统主页如下：



这里有两种输入待设计引物序列的方法，第一种是通过 NCBI 的 Entrez 数据库交互获得 Fasta 或 Genbank 源序列（origin region），这种获取方式有一定网络延迟和失败几率，需要设定需要获取的目标序列的起始和截止点，且要符合规格，起始位点不能高于截止位点，大小长度不宜超过 500bp。

另外一种输入形式，是打开本地的 fasta 或者 genbank 源文件。将红框框内的序列复制到 textarea 文本框中（消除复制内容中的空格和换行字符），将 sybol 信息复制到 input 文本框。



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NR_002312.1/?report=fasta

NCBI Resources How To

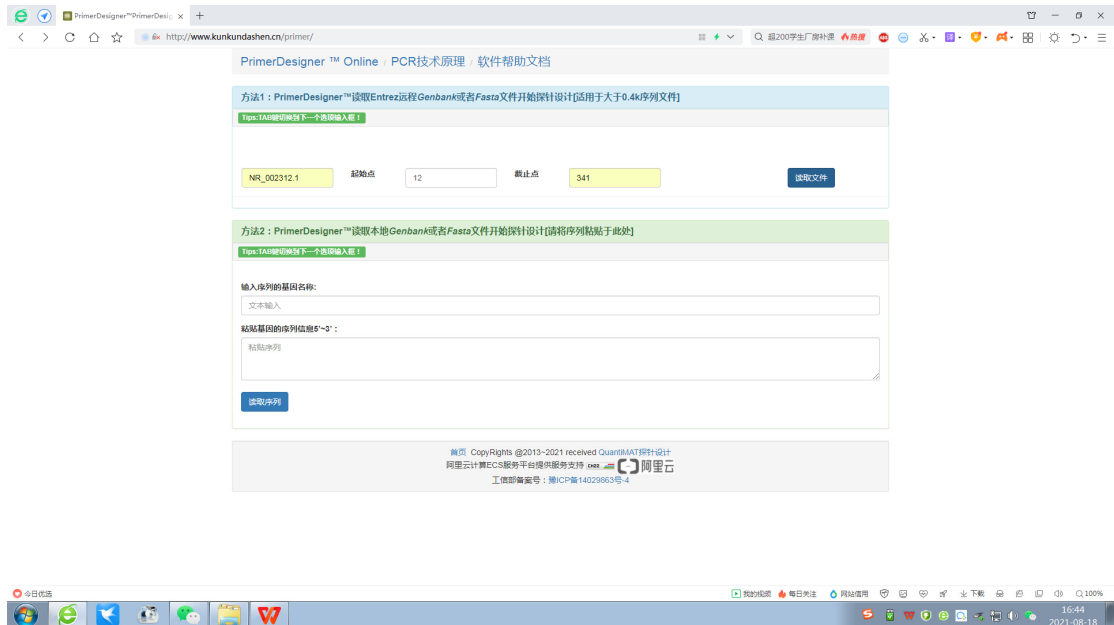
Nucleotide Nucleotide Advanced

COVID-19 Information
[Public health information \(CDC\)](#) | [Research information \(NIH\)](#) | [SARS-CoV-2 data \(NCBI\)](#) | [Prevention and treatment information \(HHS\)](#)

FASTA Send to: ▾

Homo sapiens ribonuclease P RNA component H1 (RPPH1), RNase P RNA
NCBI Reference Sequence: NR_002312.1
[GenBank](#) [Graphics](#)

>NR_002312.1 Homo sapiens ribonuclease P RNA component H1 (RPPH1), RNase P RNA
ATAGGGGGAGGGAAGCTCATCAGTGGGGCCACGAGCTGAGTGGTCTCTCACTCCACTCCCATGTOCC
TTGGGAAGGCTCTGAGACTAGGGCCAGAGGGGGCCCTAACAGGGCTCTCCCTGAGCTTCGGGGAGGTGAGT
TCCAGAGAAAGGGGCTCCGGCGAGGTCAGACTGGGCAGGAGATGCCGTGGACCCGCCCTTCGGGGAG
GGGCCGGGGATGCTCTCTTTGCGGAGCTTGAACAGACTCAAGGCCAGCGAAGTGAGTTCAATGGCT
GAGGTGAGGTACCCGCGAGGGACCTCATAACCAATTACAGACTACTCTCCGCCCAIT



PrimerDesigner™ Online PCR技术原理 / 软件帮助文档

方法1: PrimerDesigner™ 读取Entrez远程Genbank或者Fasta文件开始设计(适用于大于0.4k序列文件)

Tips: TAB键切换下一个选项输入框!

NR_002312.1 起始点 12 截止点 541 读取文件

方法2: PrimerDesigner™ 读取本地Genbank或者Fasta文件开始设计(请粘贴序列于此)

Tips: TAB键切换下一个选项输入框!

输入序列的基因名称:
文本输入

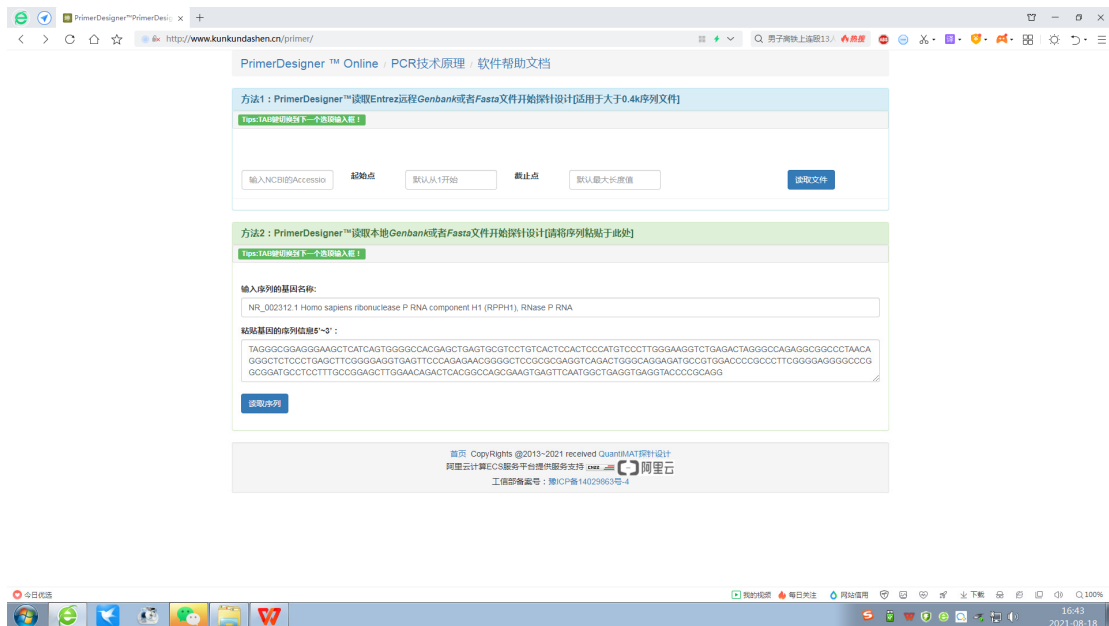
粘贴基因的序列信息5'-3':
粘贴序列

读取序列

网页 Copyright ©2013-2021 received QuantilAT设计
阿里云计算ECS服务器平台提供技术支持 阿里云
工信部备案号: 豫ICP备14029693号-4

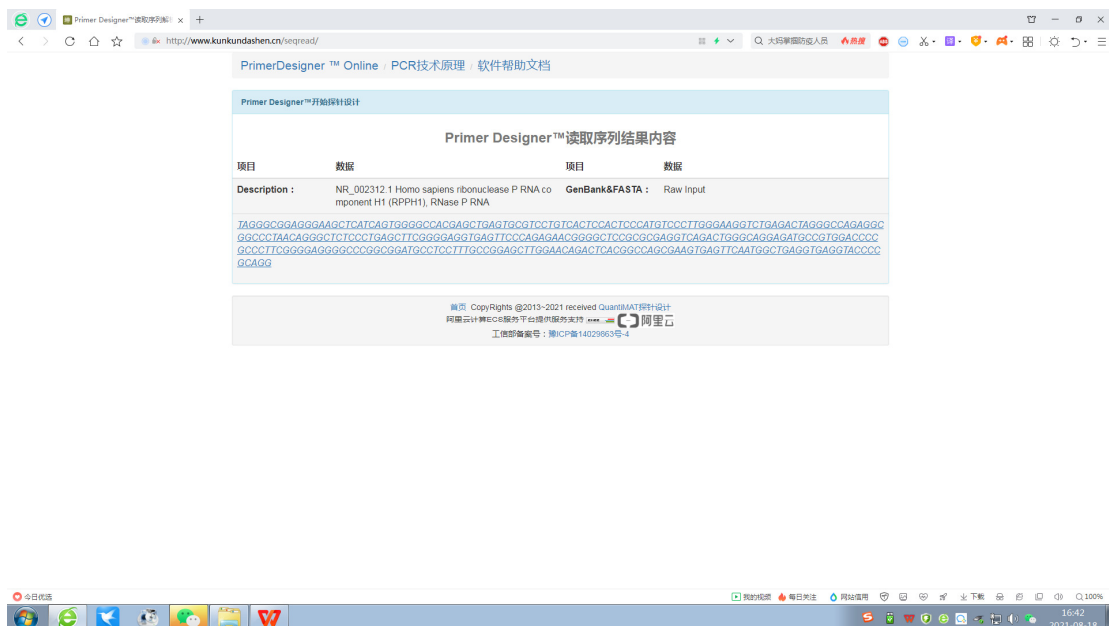
今日状态 我的成绩 每日关注 网站常用 下载 100% 16:44 2021-08-18

第一种录入方式结果



第二种录入方式结果

2.序列解析页面

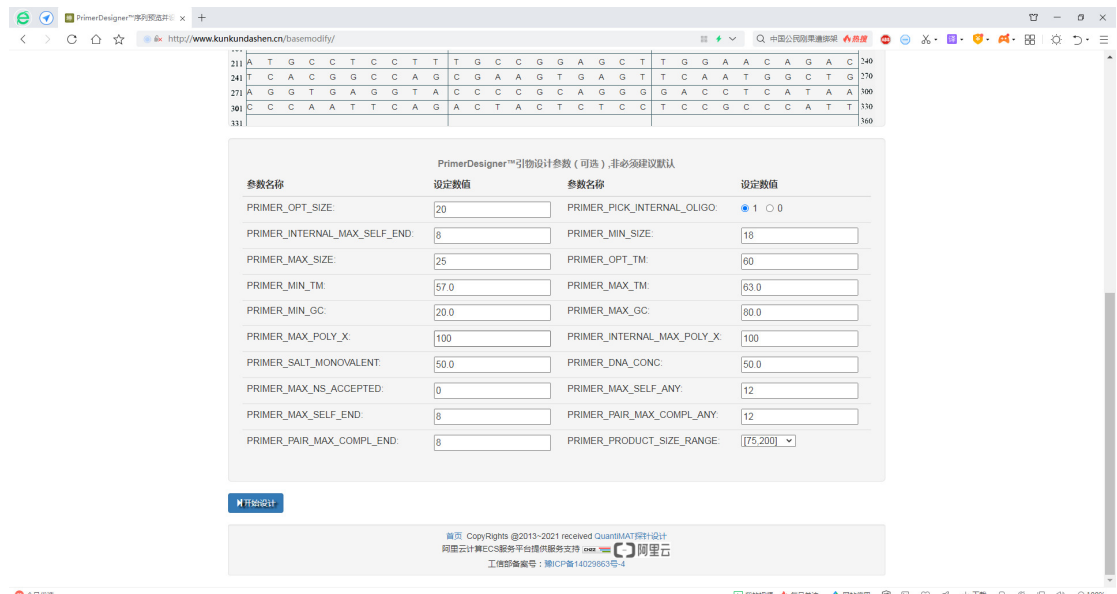




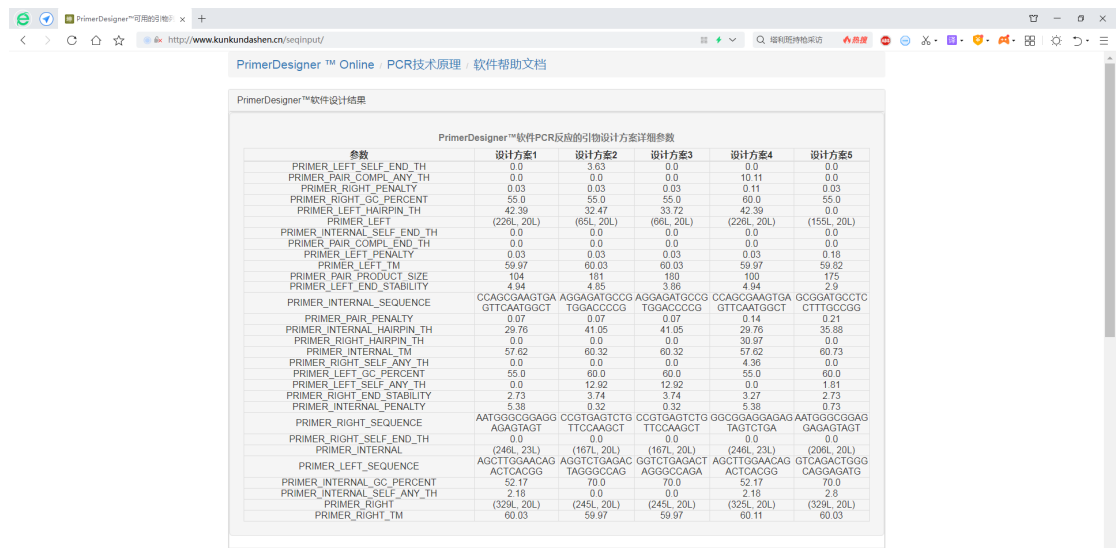
点击下面的序列超链接文本，进入引物设计参数选择页面：



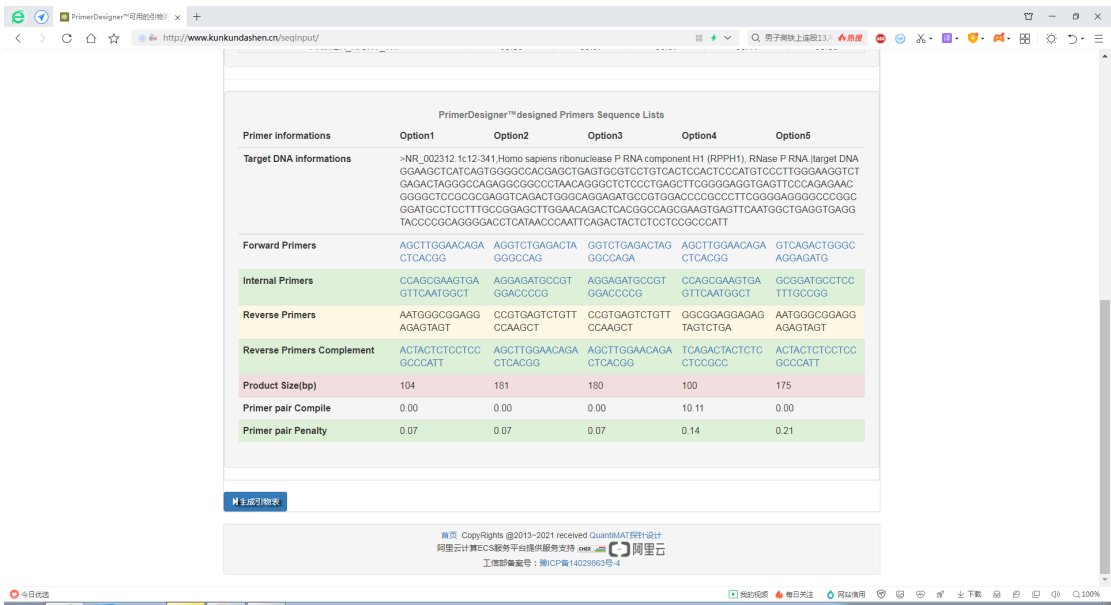
引物的参数设定表:



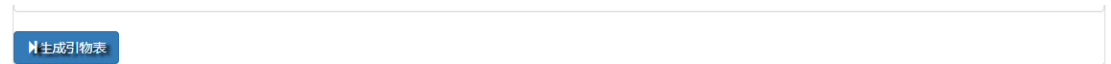
点击“开始设计”按钮，进入设计结果页面：



这里的结果展示五组引物设计方案的参数信息，包括 SELF_END_TH、COMPL_ANY_TH、PENALTY、GC_PERCENT、HAIRPIN_TH、COMPL_END_TH、TM、PRODUCT_SIZE、END_STABILITY、PRIMER_LEFT_SEQUENCE、PRIMER_INTERNAL_SEQUENCE、PRIMER_LEFT_SEQUENCE 等这些参数展示。



这个表格详细展示了目标序列到引物生成的全部序列和参数信息，点击“生成引物”按钮，下载成 excle 表格。



表格格式如下：

| A | B | C | D | E | F |
|----------------------------|---|-----------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|
| Primer informations | Option1 | Option2 | Option3 | Option4 | Option5 |
| Target DNA informations | >Homo sapiens ribonuclease P RNA component H1 (RPPH1), RNase P RNA. target DNA ATAGGGCGGAGGGAAGCTCATAGTGGGGCCACGAGCTGAGTGGCTCTGTCACTCCACTCCCATGTCCTTTGGGAAGTCTGAGACTAGGGCCAGAGGCGCCCTAACAGGGCTCTCCTGAGCTTGGGGAG GTGAGTTCCACAGAAACGGGGCTCCGGCGAGGTCAGACTGGGAGGAGATCCCGTGGACCCCGCCCTTCGGGGAGGGGCGGGCGGATGCTCTTTGCGGAGCTTGGAAACAGACTACGGCCAGGGAAGTG AGTTCAATGGCTGAGGTGAGGTACCCCGCAGGGGACCTCATACCCAATTGAGACTACTCTCTCCGCCCAATT | | | | |
| Forward Primers | AGCTTGGAAACAGACTCACGG | AGGCTGAGACTAGGGCCAG | GGTCTGAGACTAGGGCCAGA | AGCTTGGAAACAGACTCACGG | GTGAGACTGGGAGGAGATG |
| Internal Primers | CCAGCGAAGTGAGTTCAATGGCT | AGGAGATGGCGTGGACCCCG | AGGAGATGGCGTGGACCCCG | CCAGCGAAGTGAGTTCAATGGCT | GCGGATGCTCTTTGCGCG |
| Reverse Primers | AATGGCGGAGGAGAGTAGT | CCGTGAGTCTGTTCGAAGCT | CCGTGAGTCTGTTCGAAGCT | GGCGGAGGAGAGTAGTCTGA | AATGGCGGAGGAGAGTAGT |
| Reverse Primers Complement | ACTACTCTCTCCGCCCAATT | AGCTTGGAAACAGACTCACGG | AGCTTGGAAACAGACTCACGG | TCAGACTACTCTCTCCGCC | ACTACTCTCTCTCCGCCCAATT |
| Product Size(bp) | 104 | 181 | 180 | 100 | 175 |
| Primer pair Compile | 0 | 0 | 0 | 10.11 | 0 |
| Primer pair Penalty | 0.07 | 0.07 | 0.07 | 0.14 | 0.21 |

将序列提交合成就可以完成本次设计工作。