CAT#:GZ020901

免提取 PCR 直接扩增试剂盒

使用手册 V2.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本产品专用于从各种常见的生物样品中快速释放 DNA，并进行 PCR 扩增。它具有下列特点：

1. 操作简便，用时短，约 5-10 分钟即可以得到用于核酸扩增的 DNA 模板，无需提取纯化步骤。
2. PCR 扩增试剂包含 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、$MgCl_2$、反应缓冲液、PCR 反应增强剂、优化剂以及稳定剂，浓度为 2×。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点。
3. 可以用于几乎所有的生物样品，包括细菌、昆虫、真菌、各种植物、各种动物、法医样品（包括全血液、血痕、精斑、唾液、毛发、组织样品、口腔细胞和 FTA 卡）、石蜡组织切片等。
4. 在 PCR 结束后可以直接上样电泳。
5. 不含任何有毒有害的试剂。
6. 本产品可处理 400 份样品，进行 400 次 20μl 的 PCR 扩增。

成分规格

组成	组成名称	规格
组分一	核酸释放剂	20 ml
组分二	2×PCR MasterMix	4×1 ml

保存条件

核酸释放剂可常温放置，2×PCR MasterMix 需要在-20℃保存，有效期为 12 个月。

使用方法

一、DNA 释放

液体样品

1. 将约 2 μL 液体样品（如全血、细胞培养液、病毒样品、粪便样品）加入到 50 μL 核酸释放剂中。

（注意：总液体样品用量不要超过本产品用量的 1/10。）

2. 室温放置 3 分钟；对于较难裂解的样品（如有厚壁的真菌等），则保温时间可以延长到 10-30 分钟。
3. 简短振荡混匀后取样品裂解液直接进行 PCR 扩增。

组织样品

1. 将 2 mg 左右的固体样品（如动物组织、植物叶片、种子等）加入到 50 μL 核酸释放剂中。

（注意：总样品量不要超过 1 mg/10 μL 的比例。）

2. 95℃加热 5 分钟；对于较难裂解的样品（如石蜡组织切片、血斑等），则保温时间可以延长到 10-30 分钟。
3. 简短振荡混匀后取样品裂解液直接进行 PCR 扩增。

二、PCR 扩增

（注意：以下举例为常规PCR体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的调整和优化）

1. PCR体系

推荐反应体系（20 μl）

试剂	用量
样品裂解液	< 2 μl
Primer F (10 μM)	0.5 μl
Primer R (10 μM)	0.5 μl
2×PCR MasterMix	10 μl
ddH_2O	Up to 20 μl

（注意：裂解液体积最好不要超过反应体积的 1/10，对 20μL 的扩增体系，加入的裂解液不要超过 2μL。引物浓度请以终浓度 0.1 - 1.0 uM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系）

2. PCR 程序

过程		温度	时间
预变性		94℃	2 min
25 ~ 35 cycles	变性	94℃	30 sec
	退火	55-65℃	30 sec

延伸	72℃	1kb/30 sec
终延伸	72℃	2 min

（注意：a 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 Tm 低 5℃，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。b 延伸时间应根据所扩增片段大小设定，Taq DNA Polymerase 的扩增效率为 1 kb/30 sec。c 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少，扩增量不足；如果循环次数太多，错配机率会增加，非特异性背景严重。所以，在保证产物得率的前提下，应尽量减少循环次数）

3. 结果检测：反应结束后取5 μl反应产物，进行琼脂糖凝胶电泳检测。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ070104	6×Loading Buffer
GZ070105	50×TAE
GZ070106	10×TBE

关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯