

CAT#:GZ020901

---



# 免提取 PCR 直接扩增试剂盒

使用手册 V2.1

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](http://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<sub>2</sub>、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 24 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  $\mu$ L 核酸释放剂中。

(注意：总样品量不要超过 1 mg/10  $\mu$ L 的比例。)

2. 95 $^{\circ}$ C 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  $\mu$ l)

试剂	用量
样品裂解液	< 2 $\mu$ l
Primer F (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l
2 $\times$ PCR MasterMix	10 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 $\mu$ l

(注意：裂解液体积最好不要超过反应体积的 1/10，对 20 $\mu$ L 的扩增体系，加入的裂解液不要超过 2 $\mu$ L。引物浓度请以终浓度 0.1 - 1.0  $\mu$ M 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 $^{\circ}$ C	2 min
25 ~ 35 cycles	变性	94 $^{\circ}$ C 30 sec
	退火	55-65 $^{\circ}$ C 30 sec

延伸	72°C	1kb/30 sec
终延伸	72°C	2 min

(注意: a 一般实验中退火温度比扩增引物的溶解温度  $T_m$  低 5°C, 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  $\mu$ l 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 $\times$ Loading Buffer
GZ070105	50 $\times$ TAE
GZ070106	10 $\times$ TBE



关注京泽微信公众号  
了解更多产品资讯