http://www.blkwbio.com/
Tel:010-57158602/52872342
E-mail:info@blkwbio.com

组织细胞直接 PCR 扩增试剂盒

包 装 量：

目录编号	包装单位
155301	100次
155302	500次

Components	155301	155302
Buffer AD1	0.75 ml	3.75 ml
Buffer AD2	7.5 ml	37.5 ml
2 × Direct PCR Mix	1 ml	5 ml
ddH_2O(PCR grade)	10 ml	50ml

产品储存： 2 × Direct PCR Mix -20℃ 保存，避免反复冻融次数过多，3 周内短时间使用可放 4℃保存。其余常温或者 4℃保存，有效期 12 个月。

制品说明： 本制品采用独特的裂解缓冲液快速裂解动植物组织，释放的 DNA 无需纯化便可以作为模板，用高度耐抑制物的 2 × Direct PCR Mix 扩增，扩增产物可直接上样电泳。

适用范围： 动植物组织（哺乳动物，海洋动物，昆虫等）、细胞、唾液、毛发等。

特点： 简单，高通量筛选；一般扩增大小<2.5kb。

操作步骤：

1. **配制即用裂解液：** 按照10μl Buffer AD1 + 90μl ddH_2O = 100μl 比例混合配制成即用裂解液。每个样品需要75μl即用裂解液，具体量可以根据样品数量按照比例放大配制即可。**即用裂解液可常温存放1个月。**
2. 取75μl裂解液于0.2 mL PCR薄壁管中（没有PCR仪器者也可以用0.5ml离心管）。然后加入2mm见方的组织（切记不可多加，多加反而抑制下游PCR），组织块浸没在裂解液内。
3. 98℃裂解30min（建议PCR仪上操作），根据情况裂解时间可以在10分钟-1小时内调整。
4. 取出离心管迅速放冰上，加入75μl Buffer AD2，混匀，即可直接用做PCR模板或置于4℃或-20℃保存。
5. PCR扩增：

建议PCR条件(以20 μl反应体系为例)

Components	Volume	Final Concentration
裂解混合物模板	1-2 μl	as required
2 × Direct PCR Mix	10 μl	1 ×
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM each
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM each
ddH_2O to final volume	20 μl	Not applicable

PCR 循环

95℃	5min	
94℃	30 sec	35-40 cycles
54-60℃	30 sec	35-40 cycles
72℃	1 kb/min	35-40 cycles
72℃	5-10 min	

注意事项:

1. 如果扩增条带较弱，可以适当增加或者减少模板加入量，裂解混合物模板一般可以在1μl-4μl内调节。
2. 如果非特异扩增较多，可调整退火温度，或者适当增减模板用量。
3. 各溶液使用完毕后，应该立刻盖紧盖子，以免PH改变影响质量。