

DirectAmp Animal Tissue PCR Kit

组织细胞 PCR 直接扩增试剂盒

目录号: DT101

产品内容:

Components	DT101-01 (100次)	DT101-02 (500次)
Buffer AD1	0.75 ml	3.75 ml
Buffer AD2	7.5 ml	37.5 ml
2 × DirectAmp PCR Mix	1 ml	5 ml
ddH ₂ O(PCR grade)	10 ml	50ml

产品储存: 2 × DirectAmp PCR Mix -20℃ 保存, 避免反复冻融次数过多, 3 周内短时间内使用可放 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 × DirectAmp 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 ddH₂O = 100μl 比例混合配制成为即用裂解液。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。
- 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。
- 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。
- 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 × DirectAmp 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 ₂ O to final volume	20 μl	Not applicable

PCR 循环

95℃ 5min

94℃ 30 sec

54-60℃ 30 sec

72℃ 1 kb/min

72℃ 5-10 min

35-40 cycles

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。