

## 鼠尾PCR直接扩增试剂盒

### KM108 100次

#### 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KM108(100次)
Buffer AD1	4°C	0.75 ml
Buffer AD2	4°C	7.5 ml
2×Direct Amp PCR Mix	-20°C	1 ml
ddH <sub>2</sub> O(PCR grade)	4°C	10 ml

本试剂盒在所需温度储存 12 个月不影响使用效果。

#### 产品介绍:

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 Amp PCR Mix 扩增, 扩增产物可直接上样电泳。

适用范围: 鼠尾、动物组织(哺乳动物, 海洋动物, 昆虫等)、细胞等。

特点: 简单, 高通量筛选; 一般扩增大小 < 2.5kb。

#### 操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

- 配制即用裂解液:** 按照 10μl Buffer AD1 + 90μl ddH<sub>2</sub>O = 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。**
- 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°C 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°C 或 -20°C 保存

5. PCR扩增: 建议PCR条件(以20  $\mu$ l反应体系为例)

Components	Volume	Final Concentration
裂解混合物模板	1-2 $\mu$ l	as required
2 $\times$ DirectAmp PCR Mix	10 $\mu$ l	1 $\times$
Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M each
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M each
ddH <sub>2</sub> O to final volume	20 $\mu$ l	Not applicable

**PCR 循环**

95°C	5-10 min	
94°C	30 sec	} 35-40 cycles
54-60°C	30 sec	
72°C	1kb/min	
72°C	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1 $\mu$ l-4 $\mu$ l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。