天净沙系列

CAT#:221226

常温运输及保存，有低温运输成分

天净沙

免 DNA 提取 PCR 试剂盒

Direct PCR Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是可以直接用新鲜的动物、植物、细菌样品的裂解液进行 PCR 扩增的试剂盒。免 DNA 提取 PCR，即在传统 PCR 技术的基础上，免去 DNA 提取步骤。它有下列特点:

1. 操作简单，免去 DNA 提取、蛋白去除、RNA 去除等步骤，5 分钟即得用于 PCR 的模板。
2. 兼容性广，可以用于几乎所有的分子生物学样品，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。
3. 提供离心管专用研磨杵，便于处理棘手样品。
4. 环保健康，不使用任何有毒有害的试剂。
5. 尤其适用于大规模育种筛选和临床筛选。
6. 本试剂盒可以处理 400 份不同的样品，足够 400 次 PCR 实验。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

免 DNA 提取 PCR 试剂盒第一部分，编号 221226 pt1，常温运输和保存。

大扁盒包装。

成份	编号	规格	包装
免 DNA 提取 PCR 溶液 A	221226a	48 mL	60 mL 本色瓶
免 DNA 提取 PCR 溶液 B	221226b	48 mL	60 mL 本色瓶
离心管专用研磨杵	221226c	200 只×2	塑料袋

免 DNA 提取 PCR 试剂盒第二部分，编号 221226 pt2，低温运输，-20℃保存。

塑料袋包装。

成份	编号	规格	包装
2×PCR MasterMix(电泳法)	990805	1 mL×6	1.5 mL 绿盖管
使用手册	221226sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，2×PCR MasterMix 需要低温运输，-20℃保存。有效期一年。

自备试剂

自备 PCR 引物，阳性 DNA 样品，超纯水

使用方法

1. 首次使用本制品时需要详细检查免 DNA 提取 PCR 溶液 A 和免 DNA 提取 PCR 溶液 B 是否有结晶析出。如果有需要 37℃溶解后摇晃均匀待用。未用完部分可以放常温保存。
2. 根据材料不同参考下表取少量样品到 1.5 mL 塑料离心管中。

样品种类	取样量

动物组织	1～5 mg
鼠尾	2 mm 长
血液样品	不超过 20 μL
植物叶片	1～5 mg
植物种子（去皮）	1～5 mg
酵母培养物	0.2～0.5 mL 培养物沉淀
细菌培养物	0.2～0.5 mL 培养物沉淀

3. 注意：未列出的样品，用户需要自己摸索最佳用量。对富含多醌多酚的植物材料（如棉花），组织使用量最好不要超过0.5 mg。
4. 加入100 μL免DNA提取PCR溶液A，确保免DNA提取PCR溶液A完全将样品淹埋。
5. 用离心管专用研磨杵小心将样品在离心管内捣碎。血液一般情况捣碎30秒即可；实体组织需要捣碎到溶液的颜色变浑浊（植物叶片的话，溶液的颜色将变成绿色）。如需更多研磨杵，可从我司另购。对棘手的样品，还可以增加95℃保温10～60分钟一步，待温度冷却到室温后再进入下一步。残留的实体组织碎片不会影响后续试验。
6. 加入100 μL免DNA提取PCR溶液B，震荡10秒混匀。
7. 常温12000×g离心2分钟。
8. 将上清液转移到一个干净的1.5 mL离心管中。如果不用，可以放-80℃长期保存。如果用于后续PCR，请直接进入下步。
9. 简短振荡混匀后取样品裂解产物原液用超纯水进行梯度稀释（1E1-1E5），分别取5 μL直接进行30 μL体系的PCR扩增，选能检测到的梯度作为模板。如果有N个样品则设置N+3个PCR管，其中N个用于待检测样品，1个用于水的阴性对照，一个用于免DNA提取PCR溶液A和B混合液的阴性对照，另一个用于阳性DNA样品的阳性对照。30 μL体系的PCR反应体系如下：

成份	N 个样品管	阴性对照管 1	阴性对照管 2	阳性对照管
2×PCR MasterMix	15 μL	15 μL	15 μL	15 μL
细胞裂解液（来于上步）	5 μL	不加	不加	不加
免 DNA 提取 PCR 溶液 A 和 B 混合液	不加	不加	5 μL	不加

阳性 DNA 样品	不加	不加	不加	5 μL
自备 PCR 引物 1（10 μM）	1 μL	1 μL	1 μL	1 μL
自备 PCR 引物 2（10 μM）	1 μL	1 μL	1 μL	1 μL
补自备超纯水到	30 μL	30 μL	30 μL	30 μL

注意：裂解液体积最好不要超过 PCR 体积的 1/10。如果需要增加模板的加入量，则 PCR 体系应该相应的增加。如果加入 5 μL 裂解液，则可以使用 50 μL 的 PCR 体系。

10. 放入 PCR 仪中进行 PCR，PCR 参数需要根据引物 Tm 值和靶分子长度等参数设置。一般不低于 35 次循环。
11. PCR 结束后取 5～10 μL 直接上样电泳（本产品不需要上样液），红色染料电泳速度相当于 50 bp DNA 片段。

关联产品

免 RNA 提取 FFPE RT-PCR 试剂盒