



直接 PCR 扩增试剂盒说明书

Ver 2212

【产品名称】

商品名称：直接 PCR 扩增试剂盒

【产品型号/规格】

型号：BW-AT3201-00；规格：10 份/盒

型号：BW-AT3201-01；规格：50 份/盒

型号：BW-AT3201-02；规格：250 份/盒

【产品简介】

直接 PCR 扩增试剂盒是一款可以对血液、唾液、拭子样本、培养细胞、植物叶片、动物组织等样本进行直接 PCR 扩增，或 directly 对简单裂解处理后的粗提样本进行 PCR 扩增的试剂盒。本产品使用的经定向改造的 DNA 聚合酶对胍盐、尿素、EDTA、SDS 等常见 PCR 抑制剂具有超强的耐受能力。

试剂盒中的 2 × Multi-sample Direct PCR Master Mix 含有除模板和引物外 PCR 扩增的所有组分，客户只需加入引物、血液/细胞等样本或经简单裂解处理后的组织样本，并用超纯水补足体积便可快速构建 PCR 反应体系，极大简化了操作步骤并缩短实验时间。试剂盒还包括精心优化的 Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer A/B，用于对直接扩增时效果不佳的复杂样本进行简单裂解以快速释放基因组 DNA，裂解后的产物可以直接用于 PCR 反应，无需复杂的纯化步骤。

试剂盒对 2 kb 的目标片段有较好的免纯化直接扩增效果；当目标片段较长或对实验要求较高时，建议采用常规核酸纯化后再扩增的方案。

【主要组成成分】

成分	10 份/盒	50 份/盒	250 份/盒
2 × Multi-sample Direct PCR Master Mix	100 μL	500 μL	5 × 500 μL
Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer A	1 mL	5 mL	25 mL
Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer B	1 mL	5 mL	25 mL

【储存条件及有效期】

试剂盒干冰或冰上运输；收到产品后将 2 × Multi-sample Direct PCR Master Mix 保存于 -20℃，避免反复冻融；Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer A/B 可室温保存或与试剂盒一起冻存。





【操作步骤】

1. 样本处理

- **唾液：**直接取 1-2 μL 新鲜采集的唾液加入反应体系中进行扩增。
- **血液：**以新鲜或冻存的抗凝血液为模板进行扩增，吸取抗凝血时，应避免吸取血液凝块。

直接扩增法：直接吸取血液加入反应体系中进行扩增，一般推荐血液用量为总反应体系的 5%-10%。扩增反应结束后反应管中产生褐色块状沉淀属于正常现象，可以离心后取上清进行电泳检测或 PCR 产物回收。

加热裂解法：取 25 μL 哺乳动物全血（新鲜或抗凝）加入到 1.5 mL 离心管（客户自备）中，加入 100 μL Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer A，涡旋混匀，95 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min，加入 100 μL Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer B，涡旋混匀，将处理后样本 12000 rpm 离心 1 min，取 2-5 μL 上清进行 PCR 扩增。

- **培养细胞：**细胞培养液短暂离心后去上清，用适量无菌水重悬细胞，取 1 μL 重悬液进行扩增。反应体系中细胞总数在 1×10^5 时效果较好。尽量除去培养基避免其对扩增产生影响。
- **口腔上皮细胞（拭子样本）：**使用口腔拭子正常取样后，将细胞重悬在 200-500 μL 无菌水中，直接取 1 μL 样本进行扩增。如果扩增条带较淡，可以缩小重悬用的无菌水的体积，取样时多刮取几次，或适当增加扩增时的模板用量。
- **植物叶片：**尽量使用幼嫩叶片，可根据叶片来源、幼嫩程度、目标片段长短等选择直接扩增法或加热裂解法。

直接扩增法：用干净的刀片切取或用移液器枪头戳取 1-3 mm^2 的幼嫩叶片，放入含配制好反应体系的 PCR 管中，确保叶片全部浸入 PCR 反应液，直接放入仪器进行扩增。将叶片尽量切碎，或使用枪头、研磨棒等挤压或研磨叶片有助于获得更好扩增结果。

加热裂解法：取直径 5-10 mm 的幼嫩叶片（尽量切碎）加入到含有 50-100 μL Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer A 的 PCR 管或离心管（客户自备）中，95 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min。较难裂解的植物样本可适当延长裂解时间。加入等体积的 Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer B（50-100 μL ），涡旋混匀。处理后的溶液一般呈绿色。将处理后的样本 12000 rpm 离心 1 min，取 2 μL 上清进行 PCR 扩增。

- **动物组织：**将 20 mg 的动物组织（肝脏、心脏、脾、肌肉、鼠尾等）尽量切碎后置于 100 μL Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer A 的离心管（客户自备）中，95 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min，加入 100 μL Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer B，涡旋混匀，将处理后样本 12000 rpm 离心 1 min，取 1-2 μL 上清进行 PCR 扩增。





2. 推荐反应体系

组分	推荐用量	推荐终浓度
2 × Multi-sample Direct PCR Master Mix	10 μL	1 ×
Forward Primer (10 μM)	0.4 μL	0.1-1 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μL	0.1-1 μM
Sample/Crude Lysate	1-5 μL*	-
ddH ₂ O	to 20 μL	-

* 根据样本分类和处理方法加入对应的推荐体积。

3. 扩增程序（三步法）

步骤	温度	时间	循环数
Pre-denaturation	95 °C	5 min	1
	95 °C	10 s	
Amplification	55-65 °C	10 s	35
	72 °C	10-20 s/kb	
Hold	10 °C	Hold	1

【注意事项】

- 尽量在冰上配制 PCR 体系以减少非特异性扩增，提高扩增成功率。
- 预变性温度 95 °C 或者 96 °C，时间 5 min 左右，不要降低温度或缩短时间。
- 对于难以扩增的样本，可尝试在 Multi-sample Direct PCR Lysis Buffer A 中加入终浓度为 2% 的 β-巯基乙醇或 10 mM 的 DTT。
- 高 GC 含量模板扩增时可以加入终浓度 5% 的 DMSO，或加入甜菜碱，甲酰胺等增强剂。
- 直接裂解或研磨处理后的样本请尽快用于扩增反应，或离心后将上清液于 -20 °C 保存。





HANGZHOU BEIWO

MedicalTechnologyCo. Ltd 杭州倍沃医学科技有限公司

购买须知

根据说明书使用时，本产品保证性能符合产品标示和倍沃文献中的描述。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示保证，包括但不限于适销性或特定用途适用性等。倍沃对违反本保证的唯一义务和购买者的唯一补救措施是由倍沃选择更换产品。倍沃对因使用产品、使用产品结果或无法使用产品而引起的任何直接、间接、后果性或附带损害不承担任何责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电 400-115-2855 与我们联系，或访问我们的网站 www.biomiga.com.cn。

