

大肠杆菌菌液直接 PCR 试剂盒

【产品内容】

组分	规格
2×直扩 PCR Mix	1 ml
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml

【储存条件】

该试剂盒置于-20℃条件下可保存 12 个月。

【产品概述】

本产品为 2×浓度的快速扩增 PCR 预混液，具有极高的扩增速度与稳定性。反应缓冲液针对菌落/菌液 PCR 优化，适合大肠杆菌来源的模板，是 PCR 鉴定实验的理想选择。本产品包含合适浓度的 Mg²⁺、DNA 聚合酶和 dNTPs，使用时只需添加模板和引物，并补水至 1×浓度即可进行反应。产品中包含上样缓冲液，扩增产物无需额外添加 Loading Buffer 即可直接点样电泳。

【使用方法】

一、PCR 反应体系

组分	推荐用量	推荐终浓度
2×直扩 PCR Mix	10 μl	1×
Forward Primer(10μM)	0.5 μl	0.2-0.4 μM
Reverse Primer (10μM)	0.5 μl	0.2-0.4 μM
模板 DNA	1 μl	
ddH ₂ O	补足至 20 μl	

注：各组分使用前应充分混匀。

a.引物终浓度：推荐每条引物使用终浓度为 0.4 μM，引物使用量太多会导致非特异性扩增增加，使用量过少则会导致扩增失败或产量低。

b.模板使用量

菌液：建议取用量为 1 μl 菌液为模板

菌落：可直接挑取单菌落于反应液中，或将菌落溶解于 10-20 μl 无菌水中，



混匀吸取 1 μ l 为模板

c.反应体系：推荐使用 20 μ l，也可根据使用习惯调整体系体积大小。

d.体系配制：配制好 PCR 反应体系，置于涡旋仪上涡旋混匀，瞬时离心将反应液集于管底。

二、PCR 反应条件

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	3 min	1 cycle
变性	98°C	15 sec	35 cycles
退火	56°C	15 sec	
延伸	72°C	15 sec/Kb	
终延伸	72°C	5 min	1 cycle

*退火温度：请参考引物的理论 T_m 值，退火温度可设置低于引物理论值 2-5 °C，或通过梯度 PCR 确定最佳温度。

【琼脂糖凝胶电泳】

PCR 产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳（无需加入 Loading Buffer）。

【对照反应】

在 PCR 结果分析时，不管是阳性结果或阴性结果，如果没有对照反应，都不能确定结果是否可靠。为了便于后续实验结果的分析，建议在进行 PCR 时，设置阳性和阴性 PCR 对照反应以便于排除假阳性或假阴性的干扰。

【注意事项】

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服、佩戴口罩、眼罩、一次性手套等采取防护性措施进行实验操作。

2. 本产品仅作科研用途！

