

Ampdirect® Plus 使用方法

小鼠基因分型 实例

Ampdirect® (Buffer) 和 NovaTaq™ (推荐使用酶) 有效降低 PCR 反应体系里抑制物对 PCR 扩增的影响，提高 DNA 聚合能力，适合对小鼠尾部直接进行 PCR 扩增。

→ 无需 DNA 抽提，降低小鼠基因分型成本，省时省力。

消化液		反应体系 (20μl)		PCR	
	终浓度				
Tris·HCl pH8.0	20mM	2x Ampdirect® plus	10μl	40 cycles	95°C, 10min
EDTA	5mM	BIOTAQ™	0.5U		94°C, 30sec
NaCl	400mM	primer-F	1μM		58°C, 60sec
SDS	0.3%	primer-R1	0.5μM		72°C, 90sec
Proteinase K	200μg/ml	primer-R2	0.25μM		72°C, 7min
		Distilled Water	up to 20μl		

→ 把 1 ~ 5mm 尾部组织添加到 100μL 消化液中消化反应在 55°C 条件下消化 60 分钟。



尾部组织消化
(55°C · 60 分钟)

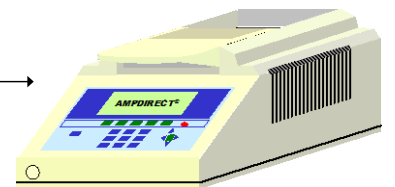


(95°C · 5 分钟)

取 0.5μl 加入反应液

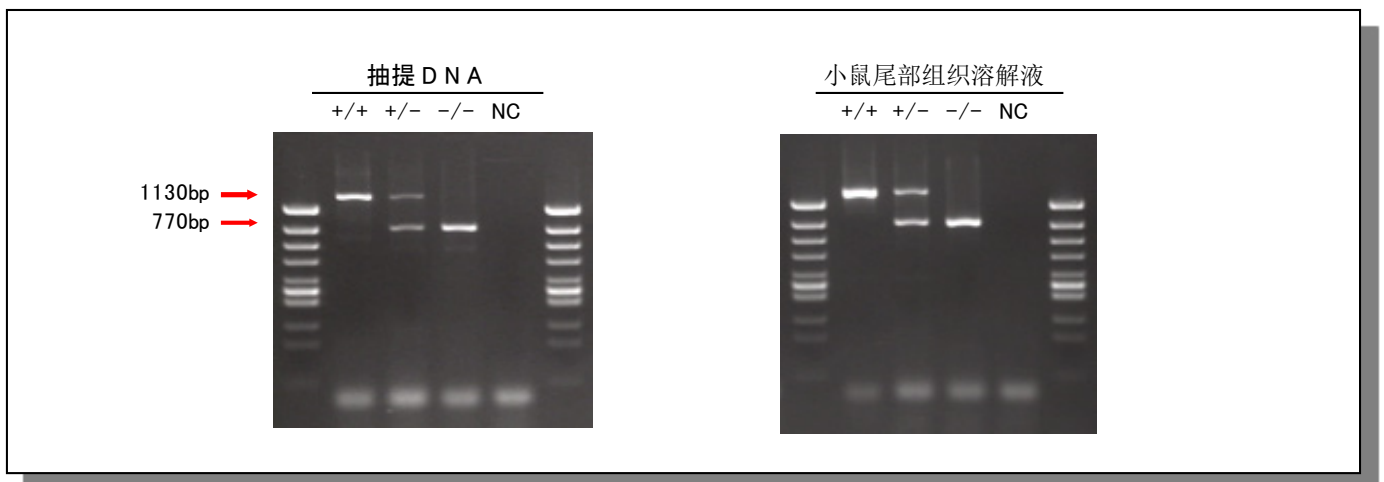


配制反应液



PCR

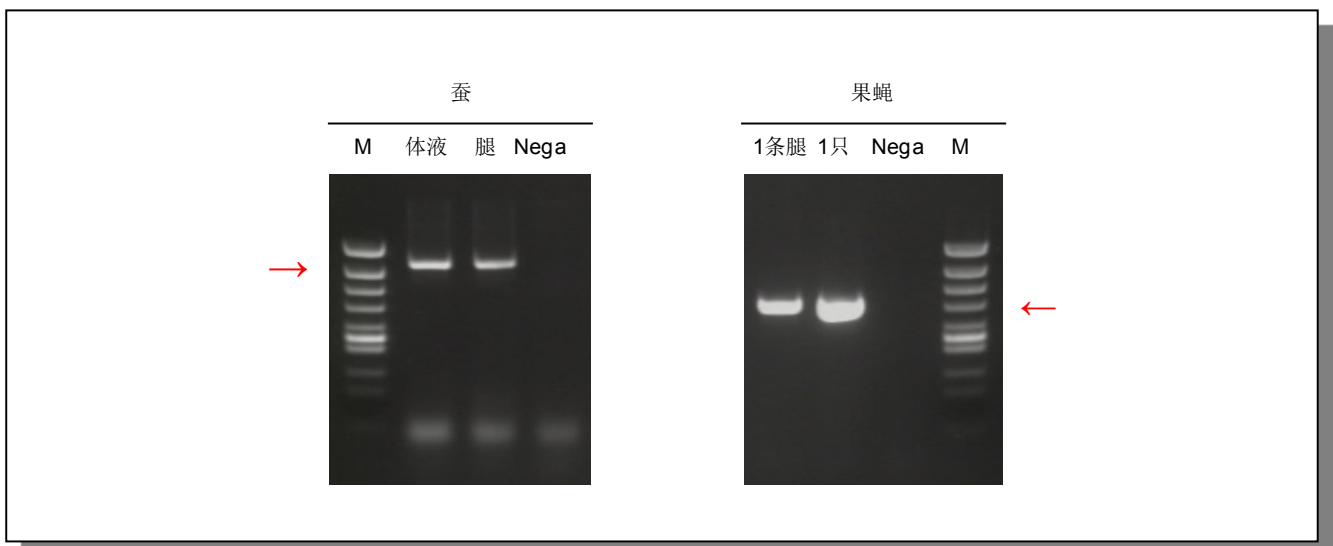
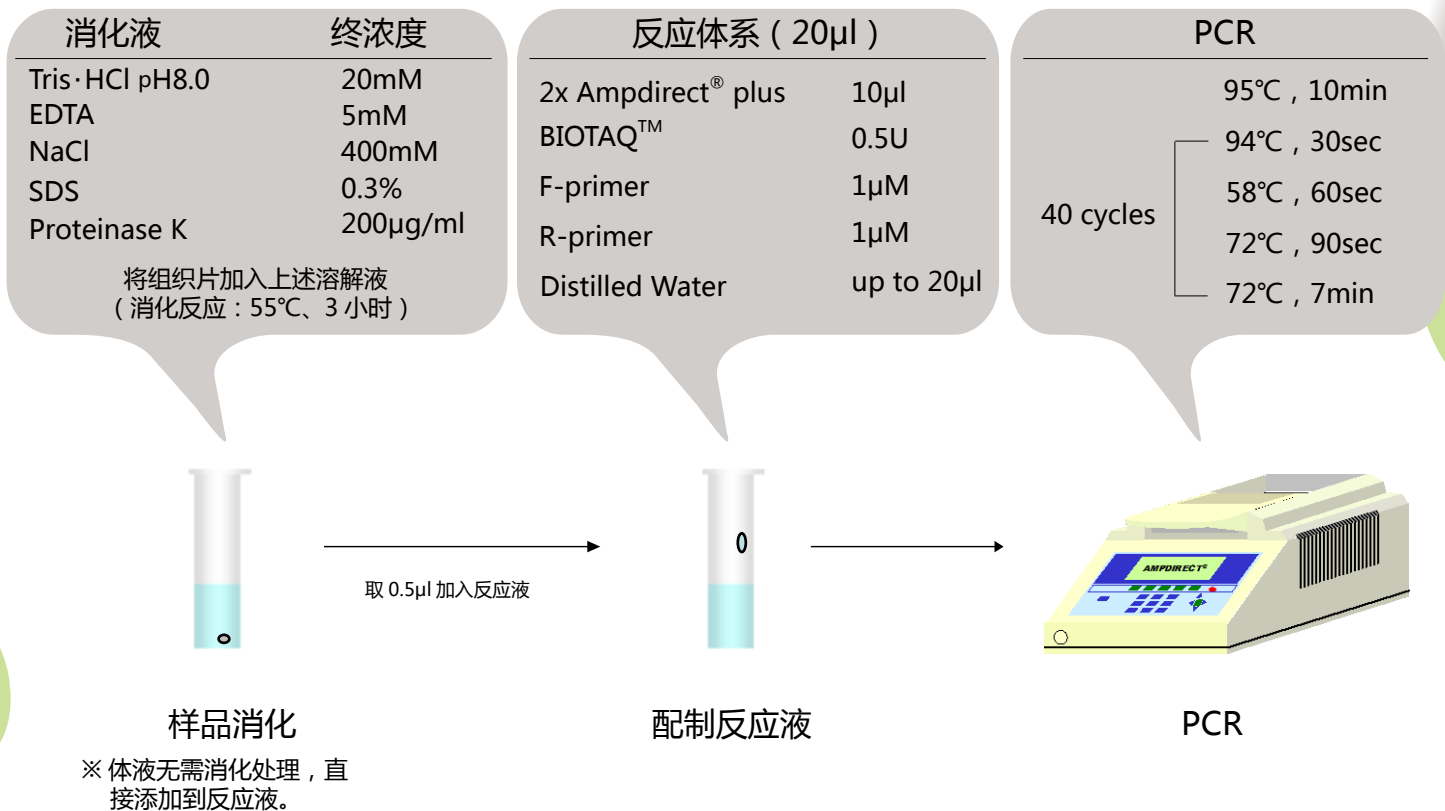
* 使用上述以外的消化液或者使用长期保存的组织的时候推荐进行 55°C, 3 小时的消化后，用纯水进行 10 倍稀释。



昆虫样品

Ampdirect® 有效降低 PCR 反应体系里各种抑制物对 PCR 扩增的影响，可对昆虫样品直接进行 PCR 扩增。

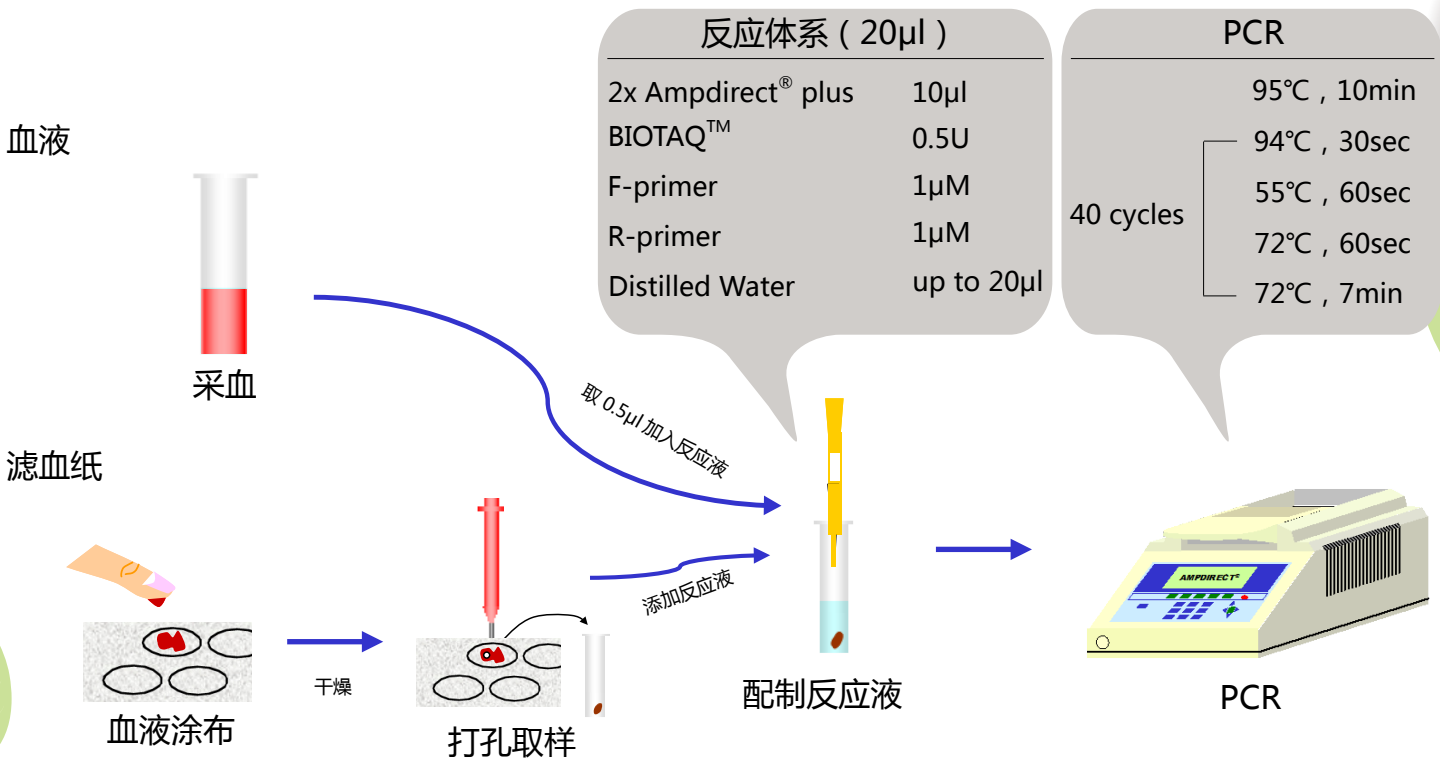
减少 DNA 提取过程中的样品损失，上样量小，即使是像果蝇的一条腿这样微量的样品也可以直接进行 PCR。



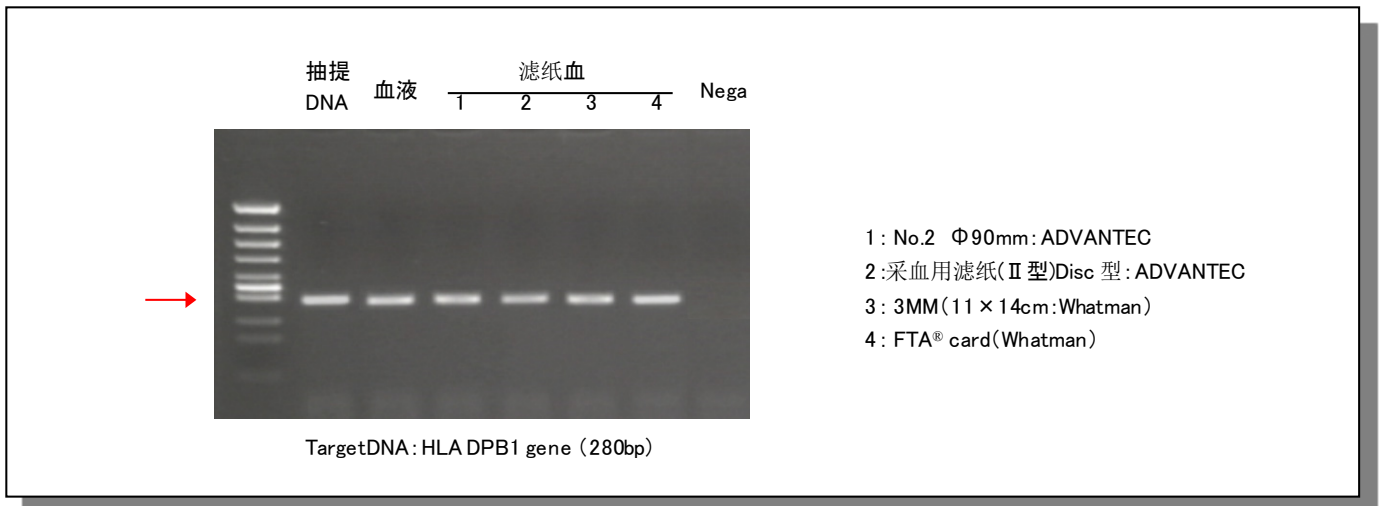
人类血液 / 滤纸血样品

Ampdirect® 有效降低 PCR 反应体系里各种抑制物对 PCR 扩增的影响，适合对血液和滤纸血样品直接进行 PCR 扩增。

无需 DNA 抽提，直接进行 PCR 反应，省时省力。



Whatman 公司
Harris Uni-Core φ1.25mm



石蜡切片样品

Ampdirect® 有效降低 PCR 反应体系里各种抑制物对 PCR 扩增的影响，适合对石蜡切片直接进行 PCR 扩增。

减少 DNA 提取过程中的样品损失，上样量小，即使是微量样品也能得到清晰结果。

消化液

终浓度

Tris·HCl pH8.0	20mM
EDTA	5mM
NaCl	400mM
SDS	0.3%
Proteinase K	200µg/ml

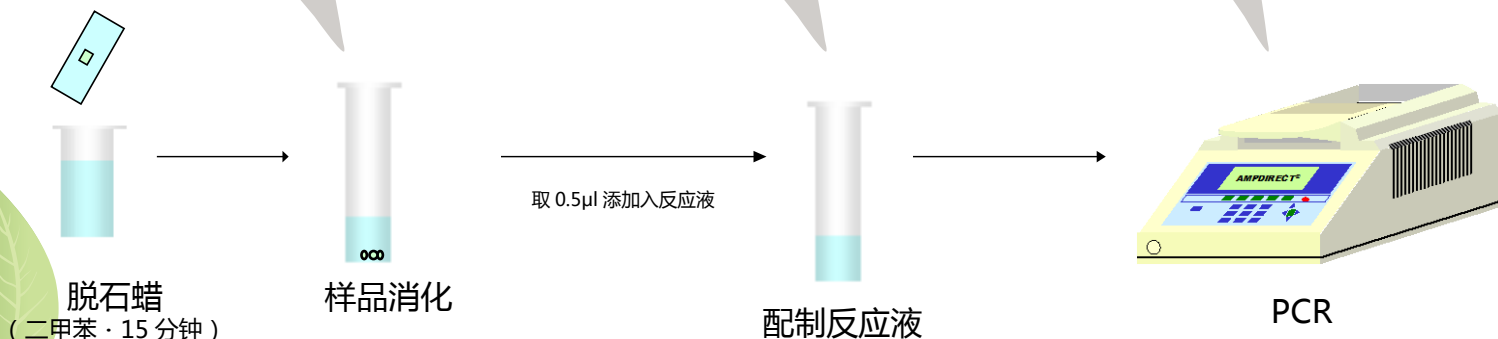
脱石蜡处理→干燥后，将样品上的组织添加至消化液
(溶解反应：55°C、3小时)*

反应体系 (20µl)

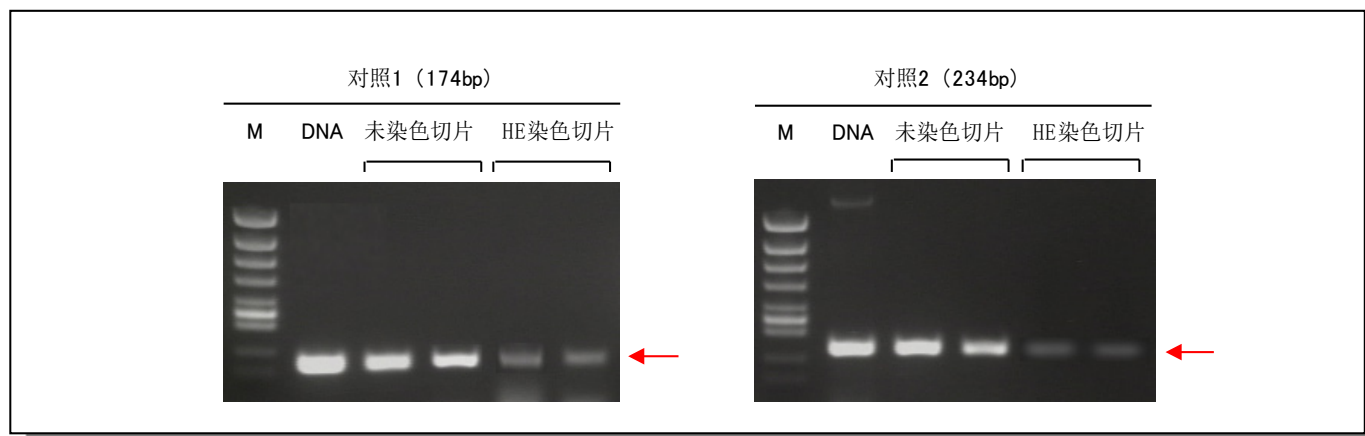
2x Ampdirect® plus	10µl
BIOTAQ™	0.5U
F-primer	1µM
R-primer	1µM
Distilled Water	up to 20µl

PCR

40 cycles	95°C, 10min
	94°C, 30sec
	58°C, 60sec
	72°C, 90sec
	72°C, 7min



- * 实验将长宽 2mm 的切片溶解于 50µl 消化液。
- * 通过将 PCR 的延伸反应温度调整为 68°C，反应时间延长 1min，增幅效率得到大大提升。

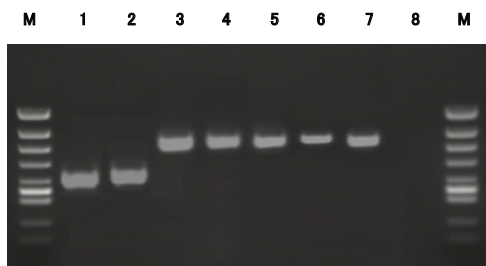
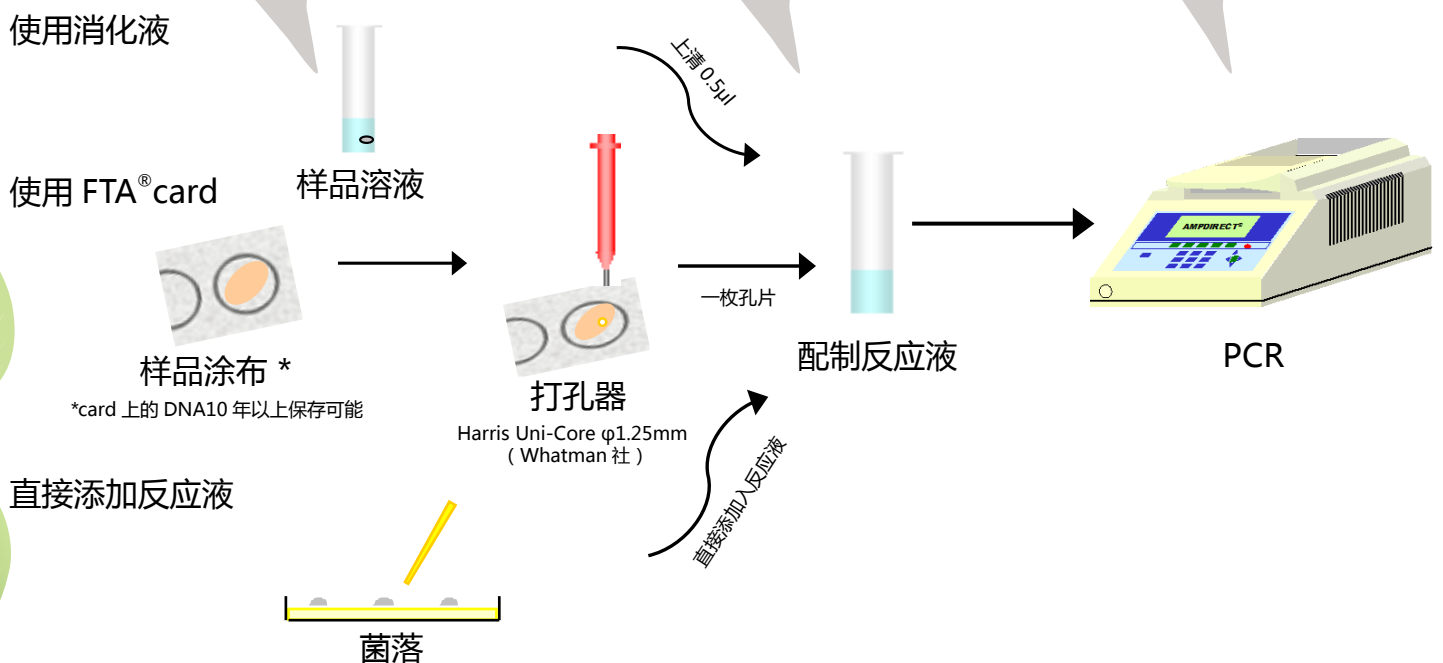


微生物样品

Ampdirect® (Buffer) 和 NovaTaq™ (推荐使用酶) 有效降低 PCR 反应体系里抑制物对 PCR 扩增的影响，提高 DNA 聚合能力，适合对微生物样品直接进行 PCR 扩增。

→ 无需 DNA 抽提，直接进行 PCR 反应，省时省力。

消化液	终浓度	PCR 反应体系 (20μl)		PCR	
Tris·HCl pH8.0	20mM	2x Ampdirect® plus	10μl	40 cycles	95°C 10min
EDTA	5mM	BIOTAQ™	0.5U		94°C 30sec
NaCl	400mM	primer-F	0.5μM		退火温度 30sec
SDS	0.3%	primer-R	0.5μM		72°C 60sec
Proteinase K	200μg/ml	Distilled Water	up to 20μl		72°C 7min
→ 溶解体积：100μl 反应条件：55°C · 1 小时 → 95°C · 5 分钟					



※ 上述消化液处理 → PCR 结果图

【样品】

- 1: 大肠菌 (404bp)
- 2: 黄色葡萄球菌 (423bp)
- 3: 出芽酵母
- 4: 念球菌
- 5: 曲霉
- 6: 厨房处常见的黑色霉菌
- 7: 水果中常见的绿色霉菌
- 8: 阴性对照
- M: Marker

真核生物的保守序列

血清中病毒样品

Ampdirect® 有效降低 PCR 反应体系里各种抑制物对 PCR 扩增的影响，适合对血清样品直接进行 PCR 扩增，进行病毒检测。

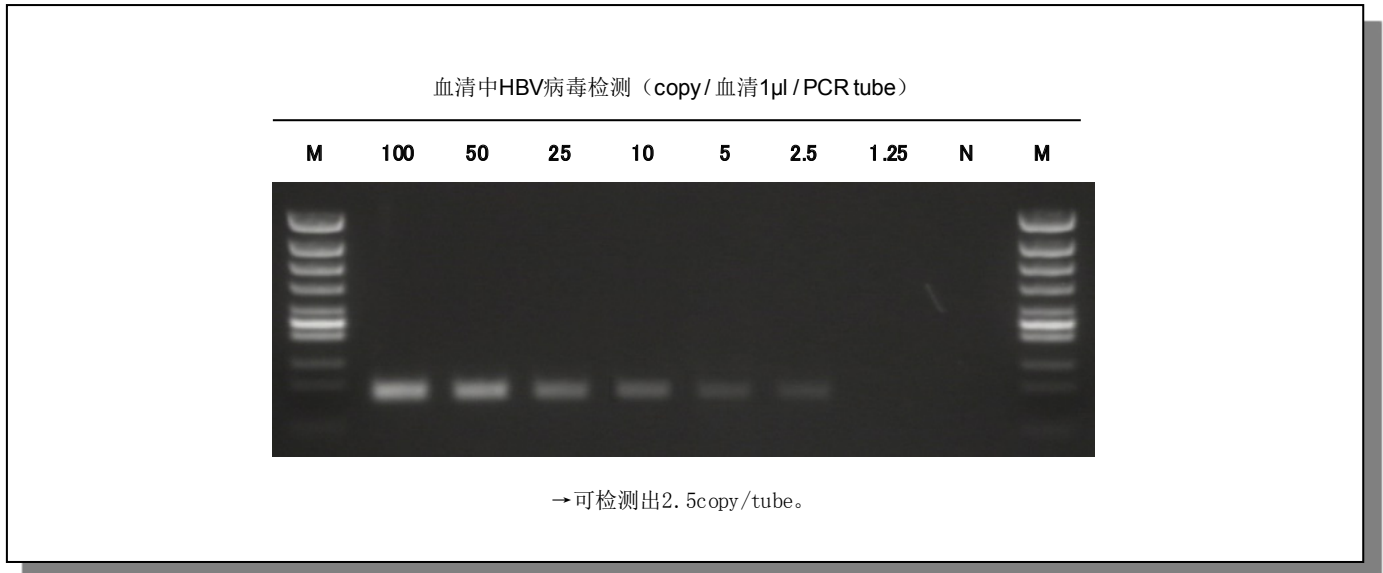
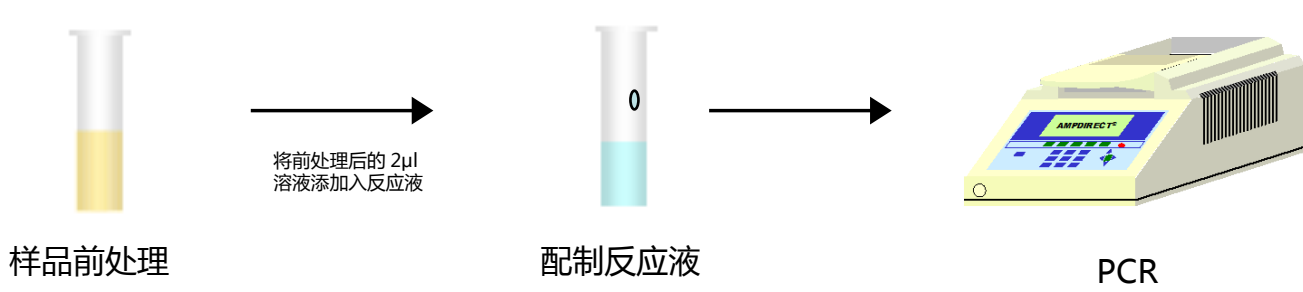
只需简单的前处理，就可检测血清中的病毒（或微生物），灵敏度高。

消化液	终浓度
Tris·HCl pH8.0	20mM
EDTA	5mM
NaCl	400mM
SDS	0.3%
Proteinase K	200µg/ml

血清和上述消化液 1 : 1 混合。
(消化反应：55°C、1 小时)

PCR 反应体系 (20µl)	
2x Ampdirect® plus	10µl
BIOTAQ™	0.5U
primer-F	0.5µM
primer-R	0.5µM
Distilled Water	up to 20µl

PCR	
40 cycles	95°C 10min
	94°C 30sec
	退火温度 30sec
	72°C 60sec
	72°C 7min



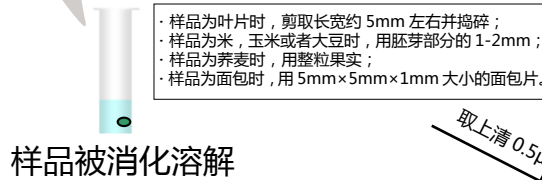
植物样品

Ampdirect® (Buffer) 和 NovaTaq™ (推荐使用酶) 有效降低 PCR 反应体系里抑制物对 PCR 扩增的影响, 提高 DNA 聚合能力, 适合对植物样品直接进行 PCR 扩增。

→ 无需去除蛋白质或多糖类物质, PCR 过程简单方便。

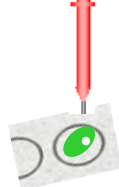
消化液	终浓度	PCR 反应体系 (20 μ l)		PCR	
Tris·HCl pH8.0	20mM	2x Ampdirect® plus	10 μ l	95°C	10min
EDTA	5mM	BIOTAQ™	0.5U	94°C	30sec
NaCl	400mM	primer-F	0.5 μ M	退火温度	30sec
SDS	0.3%	primer-R	0.5 μ M	72°C	60sec
Proteinase K	200 μ g/ml	Distilled Water	up to 20 μ l	72°C	7min
→ 消化液体积: 100 μ l 反应条件: 55°C, 3 小时				40 cycles	

使用消化液



使用 FTA® card

加样于 FTA 样品区



叶片匀浆中的 DNA 可被 FTA 卡捕获

Harris Uni-Core ϕ 1.25mm
(Whatman)

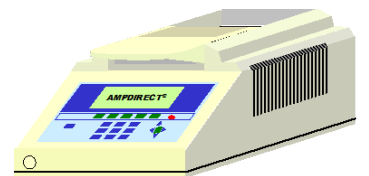
*card 上的 DNA 可在室温保存 10 年以上

取上清 0.5 μ l

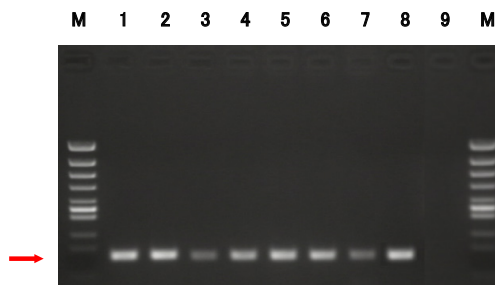
加入 PCR 反应液中

打孔器获取带有
叶片 DNA 的 FTA 卡

配制 PCR 反应液



PCR



TargetDNA: 在植物中高度保存基因区域 (124bp)

【样品】

- 1: 稻子 (叶)
- 2: 大米 (胚芽部分)
- 3: 荞麦 (果实)
- 4: 玉米 (胚芽部分)
- 5: 大豆 (胚芽部分)
- 6: 苹果 (叶)
- 7: 面包
- 8: FTAcard · 稻子 (叶)
- 9: Negative Control
- M: Marker