FS™ Mix Direct for Tissue

货号：P2071b，P2072b

产品简介

FS™ Mix Direct for Tissue 是适合组织样本扩增的 2×浓缩快速高效 PCR 预混合溶液，含有抗体修饰的热启动型 FS™ Taq DNA 聚合酶、dNTP 混合物、缓冲液等 PCR 扩增必需组分（模板与引物除外）。使用时，仅需在扩增体系中加入简单处理后的样本处理液和引物即可进行 PCR，从而可以极大地简化操作过程，缩短操作时间，降低污染（加样次数减少）。FS™ Mix Direct for Tissue 的反应体系经过优化处理，高灵敏度的 FS™ Taq DNA 聚合酶确保处理液中的微量样本得到高效扩增。本产品不用进行繁琐的 DNA 提取，最大限度减少实验误差和交叉污染；同时依靠特殊的缓冲体系增强 PCR 扩增的特异性，保证扩增效果与 DNA 模板扩增效果同样可靠。

FS™ Taq DNA 聚合酶是根据蛋白工程原理，以 Taq DNA 聚合酶为基础，研发设计的新一代 DNA 聚合酶。本产品具有类似 KOD 酶的快速扩增能力，延伸速度为 20s/kb（70~75℃，简单模板可达 5s/kb）。是普通 Taq DNA 聚合酶的 3 倍，可缩短一半以上的扩增时间；同时具备 Taq DNA 聚合酶扩增效率高、适应性广等优点。FS™ Taq DNA 聚合酶使用方法与普通 Taq DNA 聚合酶基本相同，只需注意适当缩短延伸时间。该酶具有 5'→3'聚合酶活性，无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA 突出端，可直接用于 TA 克隆。

产品组成

Component	P2071b	P2072b
2× FS™ Mix Direct for Tissue	1 ml	1 ml× 5
超纯水	1 ml	1 ml× 5
Neutralization Solution	1 ml	5 ml
Extraction Solution	10 ml	40 ml

本产品分体系中包含溴酚蓝、不含溴酚蓝两类。体系中包含溴酚蓝的产品，PCR 扩增产物可直接电泳检测。这两类产品的扩增性能无差异。如无特别说明提供体系中包含溴酚蓝的包装。

保存条件

-20℃保存 2 年。

质量控制

纯度检测：经质量检测，产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测：PCR 方法检测无宿主残余 DNA，能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 处理样品

组织：取 3-5mg 组织置于 1.5ml 离心管中，加入 180 µl Extraction Solution，充分涡旋振荡，95℃温浴 10min。加入 20 µl Neutralization Solution，充分涡旋振荡，5,000rpm 离心 2min，取 0.5-2 µl 上清进行扩增。

头发：取两根带毛囊的头发，剪下带毛囊的发根放入 1.5ml 离心管中，加入 180 µl Extraction Solution，充分涡旋振荡，95℃温浴 10min。加入 20 µl Neutralization Solution，充分涡旋振荡，5000rpm 离心 2min，取 0.5-2 µl 上清进行扩增。

口腔拭子：取样前 30min 内请勿进食及饮水，使用无菌棉签在口腔内擦拭 10 次。将棉球剪下置于 1.5ml 离心管中，加入 180 µl Extraction Solution，充分涡旋振荡，95℃温浴 10min。加入 20 µl Neutralization Solution，充分涡旋振荡，5,000rpm 离心 2min，取 0.5-2 µl 上清进行扩增。

培养细胞：如果是悬浮培养细胞直接取 1×10^3-10^4 当量的细胞加入到 50 µl PCR 反应体系中即可。如果是贴壁培养细胞，取 3-5mg 细胞组织置于 1.5ml 离心管中，加入 180 µl Extraction Solution，充分涡旋振荡，95℃温浴 10min。加入 20 µl Neutralization Solution，充分涡旋振荡，5,000rpm 离心 2min，取 0.5-2 µl 上清进行扩增。

血液、淋巴液 DNA 病毒：取 100 µl 血清或淋巴液至 1.5ml 离心管中，加入 180 µl Extraction Solution，充分涡旋振荡，95℃温浴 10min。加入 20 µl Neutralization Solution，充分涡旋振荡，12,000rpm 离心 10min，取 0.5-2 µl 上清进行扩增。

2. 配制反应体系

请于冰上或常温配置反应体系，体系大小与组分用量与添加顺序可调整：

Ordinal	Component	Volume (50 µl reaction volume)	Final concentration (50 µl reaction volume)
1	2× FS™ Mix Direct for Tissue[1]	25 µl	1×

2	upstream primer (10 μM) [2]	2 μl	0.4 μM
3	downstream primer (10 μM) [2]	2 μl	0.4 μM
4	处理液上清	0.5-2 μl	<1μg
5	超纯水[3]	To 50 μl	-
optional	$MgCl_2(MgSO_4)$/PCR Enhancer[4]	Variable	-

[1] 根据实验需要调整 FS™ Mix Direct for Tissue 用量，降低终浓度可提高反应特异性，提高终浓度可提高反应效率。

[2] 引物终浓度建议范围：0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度，效率低时可提高浓度。

[3] 可单独订购超纯水（Cat. #：P9021/P9022/P9023）。

[4] 可单独订购 25mM $MgCl_2$（Cat. #：P9031）和 PCR Enhancer（Cat. #：P9041）。

3. 设定反应程序进行 PCR 反应

大多数模板的快速扩增条件：

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94℃	3 min	1
Denaturation	94℃	30 sec	28-40
Annealing	55-68℃[1]	30 sec	
Extension	72℃	Variable[2]	
Final Extension	72℃	2 min	1

[1] 退火温度应根据 Tm 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 20 sec/kb 来设最佳。

1kb 简单模板的快速扩增条件：

由于 1kb 简单模板的二级结构简单，且长度较短，可同时缩短变性、退火时间至 15s，延伸时间 20s，以实现快速扩增。

4. 分析结果

反应产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer（Cat. #：P9041）、$MgCl_2$（Cat. #：P9031）等可提高产量。

操作注意事项

1 本产品采用改进的抗体修饰技术，依赖温度激活 DNA 聚合酶，能有效抑制非特异性结合，可在室温下配置反应体系。

2 处理的组织样本往往不会完全溶解，这是正常现象。溶解在处理液中的组织样本足够满足 FS™ Mix Direct for Tissue 扩增的需要。

3 延伸时间视片段长度而定。一般情况，≤500bp 目的片段延伸 15s，500bp-1kb 延伸 20s，＞1kb 延伸时间按 20s/kb 计算。

4 FS™ Taq DNA 聚合酶具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上一个多余的脱氧腺嘌呤核苷，可进行 TA 克隆。

5 FS™ Mix Direct for Tissue 也可采用常规程序扩增。

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3'末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；Tm 值控制在 55-65℃之间，且上下游引物 Tm 值尽量接近，额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。

广州东盛生物科技有限公司
www.gdsbio.cn 020-87791356 sales@dongshengbio.com