

NuSmart®微生物 PCR 试剂盒



(核酸直接释放)

Nu-Mi0101

试剂盒应用

本试剂盒适用于真菌（例如酵母、霉菌、担子菌）、细菌、病毒、支原体、衣原体等多类微生物扩增。无需研磨，无需酶类消化处理，无需经过硅胶膜或磁珠提取纯化，只需要将样本放入专用裂解液中处理 5 分钟。没有反复离心最大程度保证基因组完整性。操作简单，只需要 5 分钟即可将裂解物产物作为扩增模板，加入到 2× MIC Smart Mix 中。

2× MIC Smart Mix 包含修饰的 DNA 聚合酶，相较于普通 PCR，具有更高的保真度和更高的产量。PCR 产物的 3' 含有 A 末端，可直接克隆到 T 载体。

本试剂盒仅供研究使用，不可用于临床、食品、化妆品等领域。

试剂盒组成

组分	Nu-Mi0101 (50T)
MIC Buffer	1 mL
2× MIC Smart Mix	1.25mL

保存条件

-20° C 保存。

MIC Buffer 和 2× MIC Smart Mix 长期使用可放在 4° C，避免反复冻融。

需要准备

水浴锅或金属恒温浴、PCR 仪

使用方法

一、不同样品的处理方法

1. 酵母菌/细菌/病毒/霉菌等培养液

- (1) 取 10μL 培养液和 20μL MIC Buffer 充分混匀。
- (2) 置于 55° C 作用 5 分钟，溶液即为 DNA 模板。

2. 酵母菌/细菌/霉菌菌落

- (1) 挑取单菌落置于 500μL 生理盐水中，涡旋混匀。
- (2) 加入 20 μL MIC Buffer，充分混匀。
- (3) 置于 55° C 作用 5 分钟，溶液即为 DNA 模板。

3. 蘑菇类或者组织

- (1) 方法一：剪取 1-4mm 菌盖或者组织块，加入 20μL MIC Buffer 充分混匀。

方法二: 绿豆大小菌盖或者组织块放入组织匀浆器中研磨 1-2 分钟。取 10-20 μ L 与 20 μ L MIC Buffer 充分混匀。

(2) 置于 55 $^{\circ}$ C 作用 5 分钟, 溶液即为 DNA 模板。

4. 拭子

(1) 拭子头部置于 500 μ L 无菌生理盐水或者无菌水中, 浸泡 5-10 分钟, 用力挤压取 10 μ L 置于离心管中。

(2) 加入 20 μ L MIC Buffer, 充分混匀。

(3) 置于 55 $^{\circ}$ C 作用 5 分钟, 溶液即为 DNA 模板。

二、推荐 PCR 反应体系

	20 μ L 体系	50 μ L 体系 (推荐)
2 \times MIC Smart Mix	10 μ L	25 μ L
引物 1 (10 μ M)*	0.5 μ L	1 μ L
引物 2 (10 μ M)*	0.5 μ L	1 μ L
DNA 模板	0.5-2 μ L	0.5-3 μ L
ddH ₂ O	补足至 20 μ L	补足至 50 μ L

※: 引物浓度可以在 0.1-0.5 μ M 范围内进行调节。

三、按照以下方法设定 PCR 反应

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min	1
变性	95 $^{\circ}$ C	15-30 s	} 30-35
退火	50~70 $^{\circ}$ C	30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	1 kb/min	
彻底延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min	1
	4 $^{\circ}$ C	Hold	1

注意事项

1. 所有试剂应按照指定温度储存。请勿反复冻融。
2. 使用前后均需要对操作区进行消毒, 消毒方式可以采用 75%乙醇或核酸消除剂等。耗材均需使用商品化的无酶耗材。
3. 2 \times MIC Smart Mix 频繁使用, 可在 4 $^{\circ}$ C 保存。长期不使用可放 -20 $^{\circ}$ C 保存。
4. PCR 过程中推荐使用阴性对照和阳性对照。
5. 整个过程中使用的吸头、离心管等耗材应丢弃在含有 75%乙醇或核酸消除剂的容器中, 减少环境污染。
6. 2 \times MIC Smart Mix 包含染料, 可在反应结束后直接进行琼脂糖凝胶电泳。
7. 为防止试剂盒污染, 请勿将不同批号试剂盒混用。