

快速 DNA 提取扩增试剂盒

项目号: D669986

储存条件: -20℃。

产品内容

组分	50T
Buffer SA	15ml
2×PCR MasterMix	1ml
Proteinase K	12.5mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25mL

产品简介

本试剂盒采用独特的缓冲体系, 包含了快速制备基因组 DNA 和 PCR 扩增的所有试剂, 适用于从各种动植物组织、细菌中一步提取基因组 DNA 并用于 PCR 扩增。整个提取过程无需液氮研磨, 无需有机溶剂抽提, 无需无水乙醇沉淀, 提取的 DNA 质量稳定。本试剂盒提供的 2×PCR MasterMix 是一种兼容性强的 PCR 试剂, 能够高效特异扩增 DNA 样品, 该试剂包括 DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR 反应增强剂等。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点, 特别适合于高通量的筛选。

实验前准备及重要注意事项

1. 向 Proteinase K 中加入指定用量的 Proteinase K Storage Buffer 使其溶解, -20℃ 保存。配制好的 Proteinase K 勿长时间室温放置, 避免反复冻融, 以免影响其活性。
2. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
3. 使用前请检查 Buffer SA 是否出现结晶或沉淀, 如有结晶或沉淀出现, 请将 Buffer SA 于 56℃ 水浴重新溶解。
4. 本产品提供的 PCR MasterMix 为 2×, 使用时需加入模板和引物, 并加入 RNase-Free Water 补足体积, 使其浓度为 1× 即可进行反应。

操作步骤

1. 取材:

植物材料: 取约 10 mg 样本于离心管 (自备) 中;

动物材料: 取约 10 mg 样本于离心管 (自备) 中;

细菌: 取生长状态良好的菌液 200-800 μL 于离心管 (自备) 中, 收集菌体。

2. 加入 200 μL Buffer SA, 涡旋混匀。

注意: 如果是植物叶片和动物组织, 应尽量用研磨杵研磨; 如果是植物种子, 应事先破碎并研细; 细菌、1-3mm 鼠尾样本可直接涡旋裂解。

3. 加入 10 μL Proteinase K, 混匀, 56℃ 孵育 10 分钟, 95℃ 处理 5 分钟。

注意: 1) 如果为动物组织样本, 可适当延长 56℃ 孵育时间至 30 分钟; 如有未完全消化的任何组织, 应在下一步离心后尽量彻底去除。

2) 95℃ 处理时注意不要超过 5 分钟。

4. 13,000 rpm ($\sim 17,900 \times g$)，离心 5 分钟。
5. 转移上清至新的离心管（自备）中，直接用于 PCR 扩增，或 4℃ 或 -20℃ 保存溶液。
6. PCR 扩增：

1) PCR 反应体系：

以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

试剂	20 μ L 体系	终浓度
2 \times PCR MasterMix	10 μ L	1 \times
Forward Primer, 10 μ M	1 μ L	0.4 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	1 μ L	0.4 μ M
Template DNA	1-2 μ L	
RNase-free Water	up to 20 μ L	

注意：引物浓度请以终浓度 0.2-0.6 μ M 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

2) PCR 反应条件：

步骤	温度	时间
预变性	94℃	2min
变性	94℃	30s
退火	55-65℃	30s 30-40 个循环
延伸	72℃	60s
终延伸	72℃	5min

注意：1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5℃，退火时间一般为 30-60 秒，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。

2) 延伸时间根据所扩增的片段大小设定，本产品中所包含的 Taq DNA Polymerase 的扩增效率为 1kb/30s。

3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。循环次数太少，扩增量不足；循环次数多，错配几率会增加，非特异性背景严重。所以，在保证产物得率的前提下，应尽量减少循环次数。

3) 结果检测：反应结束后取 5 μ L 反应产物，直接进行琼脂糖凝胶电泳检测。