

## A&DSim 快速 DNA 提取检测试剂盒

### 产品组成

A&DSim 快速 DNA 提取检测试剂盒 Cat. No.	50 次制备 A-4005050	200 次制备 A-4005200
样本裂解液	12 ml	12 ml×4
蛋白酶 K 贮存液	500 µl	1 ml×2
2×PCR Mix	500 µl	1 ml×2
ddH <sub>2</sub> O	500 µl	1 ml×2
研磨棒	5 个	5 个
说明书	1 份	1 份

### 产品储存与有效期

-20℃ 储存，有效期为两年以上；如果频繁使用，建议储存于 2~8℃ 保存，有效期为 6 个月。

### 技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: [tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com) 电话：010-57225208。

### 产品介绍

本试剂盒包含了快速制备 DNA 和 PCR 扩增的所有试剂，可在 20 分钟内从植物组织、种子、细菌和动物组织样本中一步法提取总 DNA 并用于 PCR 扩增。整个提取过程无需有机溶剂抽提，无需无水乙醇沉淀，简便、快捷，而且质量稳定可靠。

本试剂盒提供的 2×PCR Mix 是一种优化的两倍浓度的 PCR 预混合液，Taq Plus DNA 聚合酶、PCR 增强剂和蛋白稳定剂协同提高了 PCR 效率和灵敏度，非常适合低拷贝模板扩增，特别适合于高通量的筛选。

### 用户需自备的试剂与物品

- 1.5ml 离心管、移液器吸头、一次性手套及防护用品
- 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
- 旋涡震荡器、水浴锅或干浴锅

### 使用前准备

- 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 将水浴锅或干浴锅温度设置到 56℃ 和 95℃。
- 收集样本：

植物材料：称取约 10 mg 组织放入离心管中，用研磨棒旋转挤压组织，使其成匀浆状（如果需要更多研磨棒，可以拨打 010-57225208 或加 Q:1951545998 咨询购买）；如果是植物种子，应事先破碎并研细；

动物材料：用手术刀将组织剁成匀浆状，称取约 10 mg 组织匀浆放入于离心管中；

细菌：取菌液 200-800 µl，12000 rpm 离心 30 秒收集菌体；

## 操作步骤

1. 加入200  $\mu\text{l}$ 裂解缓冲液，涡旋振荡直至组织匀浆或菌体彻底悬浮分散开来。
  2. 加入10  $\mu\text{l}$  蛋白酶K贮存液，涡旋振荡混合均匀，56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10分钟。
  3. 低速离心数秒使离心管管盖上的液体沉降到管底，然后95 $^{\circ}\text{C}$ 处理5分钟。
- \* 低速离心数秒的步骤不可省略，否则管盖上残留的蛋白酶 K 未经 95 $^{\circ}\text{C}$ 失活，可能影响后续的 PCR 扩增。
4. 最高速 ( $\geq 13,000$  rpm) 离心5分钟。
  5. 吸取150  $\mu\text{l}$ 上清转移至一个洁净的1.5 ml离心管，作为模版直接用于PCR扩增或-20 $^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。
  6. PCR 扩增：

2 $\times$ PCR Mix	10 $\mu\text{l}$
正向引物 (10 $\mu\text{M}$ )	0.5 $\mu\text{l}$
反向引物 (10 $\mu\text{M}$ )	0.5 $\mu\text{l}$
模板	2 $\mu\text{l}$
ddH <sub>2</sub> O	7 $\mu\text{l}$
Total	20 $\mu\text{l}$

7. 手指轻弹 PCR 反应管充分混匀，简短离心。

### 8. PCR 反应循环设置举例

94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min	} 35 Cycles
94 $^{\circ}\text{C}$ 30 sec	
*55 $^{\circ}\text{C}$ 30 sec	
§72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min	
72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min	

\*以实际最佳退火温度为准。

§ 以1 kb/min计算。

对于扩增300 bp以下的目的片段，可用两步法扩增，以节省扩增时间：

94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min	} 35 Cycles
94 $^{\circ}\text{C}$ 20 sec	
60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min	
72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min	

9. 结果检测：取5-10  $\mu\text{l}$ 扩增产物直接进行琼脂糖电泳检测。

\* 琼脂糖凝胶浓度与线形 DNA 最佳分辨范围的关系：

琼脂糖浓度	最佳线形 DNA 分辨范围
0.5%	1,000~30,000
0.7%	800~12,000
1.0%	500~10,000
1.2%	400~7,000
1.5%	200~3,000
2.0%	50~2,000