

AmPure Blood DNA Kit

(快速从各种抗凝血液样品中制备 DNA 用于 PCR)

简介

Magen 公司的 AmPure 产品系列采用独特的溶液系统，可快速地从各种生物样品中快速制备 DNA，用于 PCR。该系统只需对样品进行简单的处理，无需抽提纯化，得到的裂解液可直接用于各种 PCR，对 Taq 酶和反应液无特别要求。AmPure Blood DNA Kit 含快速制备 DNA 的溶液，适合于从人类、哺乳类的抗凝的血液样品中制备 DNA，也适合于从鸟类、爬行类、两栖类、鱼类等抗凝血液制备 DNA，得到 DNA 粗制液可直接用于 PCR 反应。

AmPure Blood DNA Plus Kit 含有快速制备 DNA 的溶液和 2 x Taq MasterMix (含溴酚蓝)。Taq MasterMix 含有甘油和溴酚蓝，可直接上样。

组成

AmPure Blood DNA Kit

产品成分	D7105-01	D7105-02	D7105-03
制备次数	100 次	500 次	1000 次
Buffer R1	30 ml	150 ml	300 ml
Buffer AD	12 ml	60 ml	110 ml

AmPure Blood DNA Plus Kit

产品成分	D7106-01	D7106-02	D7106-03
制备次数	100 次	500 次	1000 次
Buffer R1	30 ml	150 ml	300 ml
Buffer AD	12 ml	60 ml	110 ml
制备次数	100 次	500 次	1000 次
Taq MasterMix	2x1ml	8x1ml	14x1ml
dH ₂ O	10 ml	2 x 20 ml	3 x 40ml

保存条件

试剂盒可保存 2-8°C。Taq MasterMix 建议分装保存于-20°C。Proteinase K 溶解后，保存于-20°C。反复冻融 Proteinase K 和 Taq MasterMix 会影响实验结果。

准备条件

- 灭菌的离心管
- 95°C 水浴锅
- 55°C 水浴锅
- 加入适量 Dissolve Buffer 至 Proteinase K 干粉，使其终浓度为 20mg/ml。轻轻振荡溶解，分装保存于-20°C

Section A. DNA 制备步骤

1. 吸取 250µl Buffer R1 至 1.5ml 离心管中，然后加入 100µl 抗凝血液，颠倒混匀 3~5 次。
2. 10,000 x g 离心 1 分钟收集细胞核。小心倒弃上清液。
3. 加入 100µl Buffer AD 至沉淀中，涡旋混匀 10 秒。
4. 室温放置 5~15 分钟。
5. 把样品保存于室温或取 1-3µl 粗提液用于 PCR。

Section B. PCR 扩增

1. 按下表在冰上配制 PCR 反应液:

试剂	体积
灭菌水	~ μ l
2 x Taq MasterMix	12.5 μ l
上游引物	~ μ l
下游引物	~ μ l
DNA 抽提液	1~3 μ l
总体积	25 μ l

2. 混匀;

3. 按下表设定 PCR 仪的程序;

步骤	温度	时间	循环数
初始变性	94°C	3 分钟	1
变性	94°C	0.5-1 分钟	30-35
退火	45-68°C	0.5-1 分钟	循环
延伸	72°C	1-2 分钟	
最后延伸	72°C	10 分钟	1
保存	4°C	For ever	

4. 当 PCR 预热上 94°C 时, 暂停 PCR 仪, 把样品放入 PCR 仪中, 立即进行扩增。

5. 反应结束后, 取 3-5 μ l PCR 产物上样于 1.5-2% 琼脂糖凝胶上电泳分析结果。

C. 常见问题回答

● 扩增条带很弱或没有?

1. 样品中含有大量的抑制因子: 用灭菌水稀释 DNA。若需检测是否由抑制因子, 可 DNA 粗制液加入 100-500 个拷贝的已知的基因模块, 再进行 PCR。
2. PCR 参数设计不够合理; 改变退火温度, 延伸时间, 延长循环数等;
3. 加入 Buffer R3 后, 细胞核沉淀团没有充分涡旋打散, DNA 没有充分释放出来。
4. 样品在贮藏过程中发生降解。

● 扩增条带不特异?

1. 采用热启动 Taq 酶, 以提高特异性;
2. 若使用 Taq MasterMix, 必须在冰上配制反应液, 并待 PCR 仪升温至 94°C 后, 再把 PCR 反应液转移至 PCR 仪中, 以减少非特异性的扩增。
3. 用 Touchdown PCR 技术, 减少非特异性的扩增。