

Version: AF 4.0 (2024.02.20修订)

## Spark Animal Cell/Tissue Direct PCR Kit

目录号: AF1302

### 01/产品组分

序号	组分	AF1302-A 100rxn(20μL/rxn)	AF1302-B 500rxn(20μL/rxn)
1	2×Spark Animal Direct PCR Mix	1 mL	5 mL
2	Buffer AD1	0.75 mL	3.75 mL
3	Buffer AD2	7.5 mL	37.5 mL
4	ddH <sub>2</sub> O (PCR grade)	10 mL	50mL

### 02/保存条件

2×Spark Animal Direct PCR Mix于-20°C保存，避免反复冻融，其他组分4°C或室温保存。

### 03/产品概述

本制品采用独特的裂解缓冲液，能快速裂解动物组织，释放的 DNA 无需纯化便可作为模板，使用高度耐抑制物的 2×Spark Animal Direct PCR Mix 进行扩增，扩增产物可直接上样电泳。

### 04/适用范围

动物组织（哺乳动物、海洋动物、昆虫等）、细胞、唾液、毛发等。

### 05/操作步骤

1. 配制即用裂解液：按照10 μL Buffer AD1+90 μL ddH<sub>2</sub>O=100 μL的比例混合配制成即用裂解液。每个样品需要75 μL即用裂解液，具体量可以根据样品数量按照比例放大配制。即用裂解液可常温存放1个月；
2. 取75 μL裂解液于0.2 mL PCR薄壁管中（没有PCR仪器者也可以用1.5 mL离心管）。然后加入2 mm见方的组织（切记不可多加，多加反而抑制下游PCR），组织块浸没在裂解液内；

3. 98°C裂解30 min（建议PCR仪上操作），根据裂解情况，可在10 min-1 h的时间内进行调整；
4. 取出离心管迅速放在冰上，加入75 μL Buffer AD2，混匀，即可直接用做PCR模板或置于4°C或-20°C保存；
5. PCR扩增。

## 06/实验流程

### 反应体系

操作在冰上进行，各组解冻后请充分混匀后使用，用完后请及时放回-20°C保存。反应体系不同，可按此比例增加或减少产品用量。

Components	Volume
裂解混合物模板	1-2 μL
2×Spark Animal Direct PCR Mix	10 μL
Forward Primer(10 μM)	0.4 μL
Reverse Primer(10 μM)	0.4 μL
ddH <sub>2</sub> O	up to 20 μL

### 反应程序

95°C:	5 min	} 35-40 cycles
94°C:	30 sec	
54-60°C:	30 sec	
72°C:	1 kb/min	
72°C:	5-10 min	

▲如果扩增条带较弱，可适当增加或减少模板加入量，裂解混合物模板可以在1 μL-4 μL内调节。

▲退火温度需根据引物的T<sub>m</sub>值进行调整，若有需要，可通过进行退火温度梯度PCR寻找引物与模板结合的最佳退火温度。

▲进行复杂模板扩增时，可将终延伸时间延长至10 min。

## 07/结果检测

反应结束后取5 μL反应产物，在适合浓度的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。如果PCR产品中含染料，那扩增后的产物不需加上样缓冲液，可直接上样进行电泳。

## 08/相关产品

- AA1002 SPARKeasy 组织/细胞基因组 DNA 快速提取试剂盒 (含蛋白酶 K)
- AJ0101 Spark 2000 DNA Marker
- AJ0206 Spark 50×TAE Buffer
- AJ0210 Sparkred
- AC1709 RNase-Free and DNase-Free 纯水

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

