

版本号: DP160714

## Mouse Tissue Direct PCR Kit

### 小鼠组织直接PCR试剂盒

目录号: KG205

#### 产品内容

产品组成	KG205-01 (25 $\mu$ l $\times$ 50 rxn)	KG205-02 (25 $\mu$ l $\times$ 200 rxn)
Tissue Lysis Buffer	5 ml	20 ml
Digestive Enzyme	200 $\mu$ l	800 $\mu$ l
2 $\times$ Dir PCR MasterMix	625 $\mu$ l	2 $\times$ 1.25 ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml	2 $\times$ 1 ml

#### 储存条件

组织裂解缓冲液Tissue Lysis Buffer和Digestive Enzyme在室温(15-25 $^{\circ}$ C)干燥条件下可保存12个月; 2  $\times$  Dir PCR MasterMix在-20 $^{\circ}$ C条件下可长期保存, 多次冻融不会影响活性, 如需经常使用, 可存放于4 $^{\circ}$ C。

---

## 产品简介

本试剂盒采用独特的包装体系，包含了快速制备小鼠组织基因组DNA和后续PCR扩增的所有试剂，适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法提取基因组DNA并用于后续的PCR扩增和检测。整个提取过程不包含匀浆、破碎、过夜消化、酚氯仿抽提、DNA沉淀或柱式纯化等操作，实验操作简便、快捷，而且结果稳定可靠。

本试剂盒提供的2 x Dir PCR MasterMix是一种高扩增兼容性的PCR试剂，无需彻底去除蛋白等杂质，便能进行高效特异扩增。该预混Mix包含抗体修饰的Taq DNA聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR反应增强剂和稳定剂，操作时只需加入粗提模板和引物即可进行后续检测，具有操作简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点，特别适合于高通量的检测筛选。Mix中预混有电泳染料，可在反应结束后直接进行电泳检测，使用方便快捷。PCR产物的3'端带A，可进行TA克隆。

## 产品特点

**简单快速：**适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法基因鉴定。

**高特异性：**本产品所用Taq酶为抗体修饰热启动酶，具有高效的模板和引物亲和性及扩增特异性，特别适合基因分型和转基因鉴定。

**基因检测：**本产品操作简便，结果可靠，特别适合小鼠的高通量分析检测。

**注意事项：** 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
  2. 组织裂解缓冲液Tissue Lysis Buffer应放置于室温保存，如放在低温（-20℃或4℃）保存时有沉淀析出，可在37℃水浴中重新溶解沉淀，并摇匀溶液后使用。
  3. 本产品提供的2 x Dir PCR MasterMix 为2x母液，使用时需加入模板和引物，并加入灭菌水补足体积，使其浓度为1x即可进行反应。
-

## 实验操作步骤

1. 第一次使用本试剂盒时，请仔细查看组织裂解缓冲液Tissue Lysis Buffer中是否有结晶析出，如有结晶请将该缓冲液于室温充分平衡至结晶完全溶解，或在37°C水浴中重新溶解沉淀摇匀后使用。组织裂解缓冲液溶解后在室温保存。
2. 按照下表配方配制组织消化液：

组成成分	体积
Tissue Lysis Buffer	96 $\mu$ l
Digestive Enzyme	4 $\mu$ l
Total	100 $\mu$ l

**注意：**消化液请尽量现用现配，以保证Digestive Enzyme的活性。

3. 取少量小鼠组织样品（约5~10 mg）于1.5 ml的离心管中，加入100  $\mu$ l 组织消化液，确保组织样品完全浸润于组织消化液中，65°C处理30 min。期间每隔10 min左右轻弹管底，提高消化效率。
4. 消化结束后，瞬时离心，并于95~100°C下处理5 min。
5. PCR扩增反应。取1  $\mu$ l上清用于PCR反应，参考PCR体系及扩增程序如下：

## 参考反应体系

PCR反应体系的建立，25  $\mu$ l体系如下：

组成成分	体积
2 x Dir PCR MasterMix	12.5 $\mu$ l
正向引物（10 $\mu$ M）	0.5 $\mu$ l
反向引物（10 $\mu$ M）	0.5 $\mu$ l
模板DNA	1.0 $\mu$ l
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	补至25 $\mu$ l

试剂全部加好后，混匀并瞬时离心，将所有试剂收集到管底。

---

## 参考反应条件

温度	时间	循环数
95°C	3 min	1 cycle
94°C	30 sec	35 cycles
55°C <sup>▲1</sup>	30 sec	
72°C	1 kb/min	
72°C	5 min	1 cycle
4°C	Holding	1 cycle

▲<sup>1</sup> 通常引物退火温度比引物的解链温度(T<sub>m</sub>)低5°C，具体退火温度设定可根据引物情况进行调整。

## 结果检测

反应结束后取5~10 μl反应产物，进行琼脂糖凝胶电泳检测。

**注意：**举例仅供参考，实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况设定最佳反应条件。操作中如发现管壁或管盖上有液体可以瞬时离心将其甩至管底。

---