

小鼠组织直接PCR试剂盒

使用说明书 (Ver.0.0.1)

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。

产品货号：

JSR-ED-101-50 (50 次反应) JSR-ED-101-200 (200 次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录 Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品简介	1
产品特性	1
储存条件	2
适用范围	2
操作步骤	2
组件查询	3

产品组份

试剂盒组成	50 次反应	200 次	保存
组织裂解缓冲液	5 ml	20 ml	室温
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	100 μ l	400 μ l	-20 $^{\circ}$ C
2 $\times$ Dir PCR Master Mix	625 μ l	625 μ l $\times$ 4	-20 $^{\circ}$ C
无 DNase/RNase 水	1 ml	1 ml $\times$ 4	室温

注意事项

1. 样本应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 组织裂解缓冲液应放置于室温（15~30 $^{\circ}$ C）保存，如放在低温保存时有沉淀析出，可在 37 $^{\circ}$ C 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 $\times$ Dir PCR Master Mix 为 2 $\times$ 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 1 $\times$ 即可进行反应。

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。

试剂盒提供的 2 $\times$ 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、MgCl₂、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。

产品特性

- ◇ 简单快速：无需液氮研磨和有机溶剂抽提，35 min 即可快速释放小鼠组织 DNA。
- ◇ 适用广泛：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。
- ◇ 高特异性：本产品所用 Taq 酶为抗体修饰热启动酶，具有高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。

储存条件

组织裂解缓冲液和蛋白酶 K 溶液在室温（15-30℃）干燥条件下可保存 15 个月；2 × Dir PCR Master Mix 在-30℃~-15℃ 条件下可保存 15 个月，多次冻融不会影响活性。≤0℃ 运输。

适用范围

- ✧ 小鼠基因型鉴定
- ✧ 小鼠转基因检测
- ✧ 小鼠基因敲除分析

操作步骤

- 第一次使用本试剂盒时，请仔细查看组织裂解缓冲液中是否有结晶析出，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℃ 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。
- 按照下表配方配制组织消化液：

组成成分	体积/反应
组织裂解缓冲液	96 μl
蛋白酶 K 溶液	4 μl
总体积	100 μl

*消化液请尽量现用现配，以保证蛋白酶 K 溶液的活性。

- 取少量小鼠组织样本（约 5~10 mg）于 1.5 ml 的离心管中，加入 100 μl 组织裂解液，确保组织样本完全浸润于组织裂解液中，涡旋振荡后在 55℃ 水浴中孵育 30 min。期间每隔 10 min 左右轻弹管底，提高消化效率。
- 孵育完成后，瞬时离心，并于 95℃ 或者沸水浴中加热 5 min，灭活蛋白酶 K 溶液。
- 将裂解产物涡旋振荡充分混匀后，12,000 rpm(13,400 × g)离心 5 min，取 2μl 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，25μl 体系如下：

组成成分	体积/反应
2 × Dir PCR Master Mix	12.5 μl
正向引物 (10 μM)	0.5 μl
反向引物 (10 μM)	0.5 μl
模板 DNA	2 μl
无 DNase/RNase 水	补齐到 25 μl

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
94°C	5 min	1
94°C	30 sec	35
55°C	30 sec	
72°C	30 sec/kb	
72°C	7 min	1
4°C	∞	1

*通常情况下，引物退火温度比其解链温度（T_m）低 5°C，具体的退火温度设定需根据引物的实际情况进行调整。

6. 反应结束后取 5~10μl 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，引物等结构不同而各异，需根据实际情况设定适宜反应条件。操作中如发现管壁或管盖上有液体，可通过瞬时离心的方式将其甩至管底。

组件查询

组件名称	货号	规格	规格
组织裂解缓冲液	JSR-ED-101-01	5 ml	室温
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	TD3001-2-0.1	100 μl	-20°C
	TD3001-2-0.4	400 μl	
2 × Dir PCR Master Mix	JSR-ED-101-03	625 μl	-20°C
无 DNase/RNase 水	TW1001-1	1 ml	室温