

版本号: KG210831

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 μ l \times 50 rxn) | KG205-02 (25 μ l \times 200 rxn) |
|-------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Tissue Lysis Buffer | 5 ml | 20 ml |
| Digestive Enzyme | 200 μ l | 800 μ l |
| 2 \times Dir PCR MasterMix | 625 μ l | 2 \times 1.25 ml |
| RNase-Free ddH ₂ 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(15-30 $^{\circ}$ C)干燥条件下可保存15个月; 2 \times Dir PCR MasterMix在-30~-15 $^{\circ}$ C条件下可保存15个月, 多次冻融不会影响活性。

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、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（15-30℃）保存，如放在低温保存时有沉淀析出，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 μl |
| Digestive Enzyme | 4 μl |
| Total | 100 μl |

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 μl 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 μl 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 μl 体系如下:

| 组成成分 | 体积 |
|-------------------------------|--------------------|
| 2 x Dir PCR MasterMix | 12.5 μl |
| 正向引物 (10 μM) | 0.5 μl |
| 反向引物 (10 μM) | 0.5 μl |
| 模板DNA | 1.0 μl |
| RNase-Free ddH ₂ O | 补至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。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

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 ^{▲1} | 30 sec | |
| 72°C | 1 kb/min | |
| 72°C | 5 min | 1 cycle |
| 4°C | Holding | 1 cycle |

^{▲1} 通常引物退火温度比引物的解链温度(Tm)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适宜反应条件。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。