

One Step Mouse Tissue Direct PCR Kit

一步法小鼠组织直接扩增试剂盒

产品编号: MA2002 规格: 500 μ L / 5 $\times$ 1mL

产品内容

产品组成	MA2002-T	MA2002-1
2 $\times$ Mouse Tissue Direct PCR Mix	500 μ L	5 $\times$ 1mL
Lysis Buffer	5mL	2 $\times$ 20mL
Proteinase K	100 μ L	800 μ L
说明书	1份	1份

产品简介

One Step Mouse Tissue Direct PCR Kit (一步法小鼠组织直接扩增试剂盒) 包含DNA粗提及PCR扩增体系, 可直接快速地对小鼠组织 (如鼠尾、鼠耳、鼠趾等) 样本进行PCR扩增, 用于基因型鉴定, 无需过夜消化、酚氯仿抽提或柱式纯化等操作, 极大缩短实验耗时。产品适用于2 kb以内目的片段的扩增以及3对引物以内的多重PCR反应。

本产品组分2 $\times$ Mouse Tissue Direct PCR Mix中, 包含经过基因工程改造的DNA聚合酶、Mg²⁺、dNTPs及优化的缓冲体系, 具有极高的扩增效率和抑制物耐受度, 使用时只需加入模板、引物和水即可进行PCR扩增, 操作简便。

本产品适用于小鼠基因敲除分析、转基因鉴定、基因分型等, 扩增产物3'端带A (粘性末端), 可直接用于TA克隆。

使用说明

(一) 样本基因组DNA释放

1. 根据需要裂解的样品数量, 配制适量裂解液(1 $\times$), 单个样品所需裂解液配制方法如下:

组分	体积 (μ L)
Lysis Buffer	200
Proteinase K	4

2. 取适量小鼠组织样品 (组织使用量参考下表) 于干净的离心管中, 向每个离心管中加入200 μ L新鲜的组织裂解液, 涡旋振荡后在55 $^{\circ}$ C下孵育30min, 98 $^{\circ}$ C加热处理3min (灭活Proteinase K)。

推荐组织使用量如下:

组织类型	小鼠尾尖	小鼠耳朵	小鼠脚趾
推荐用量	1~3 mm	2~5 mm ²	1~2 个

3. 将裂解产物涡旋振荡充分混匀后, 12,000rpm (~13400 $\times$ g) 离心5min, 取上清即可进行PCR反应。也可将上清液转移至另一个无菌离心管中, 并置于-20 $^{\circ}$ C保存, 保存时间为2周。

(二) PCR扩增

1. 反应体系: 从-20 $^{\circ}$ C取出2 $\times$ Mouse Tissue Direct PCR Mix, 于冰上完全解冻, 上下颠倒混匀。按照下表配制反应体系 (冰上进行):

组分	25 μ L体系	50 μ L体系
2 $\times$ Mouse Tissue Direct PCR Mix	12.5 μ L	25 μ L
上游引物(10 μ M)	1 μ L	2 μ L
下游引物(10 μ M)	1 μ L	2 μ L
裂解产物(模板DNA)	1~3 μ L	2~5 μ L
ddH ₂ O	to 25 μ L	to 50 μ L

【注意】裂解产物加入量不应超过体系的1/10, 加入量过高可能会抑制PCR扩增。

大连美仑生物技术有限公司

官网: <https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱: 0411-62910999 sales@meilunbio.com

本产品仅供科研使用



2.反应程序:

步骤	温度	时间	循环数(cycles)
预变性	94 °C	5 min	1
变性	94 °C	30 sec	35~40
退火	Tm+3~5 °C	30 sec	
延伸	72 °C	30 sec/kb	
终延伸	72 °C	5 min	1
/	4 °C	Hold	/

【注意】退火温度参考引物Tm值, 建议退火温度设置为引物中Tm较小值+3~5°C, 最高≤68°C。

保存条件

Lysis Buffer 2~8°C保存, 其余组分-20°C保存。自生产之日起24个月有效。

注意事项

- 1、为了避免样品间出现交叉污染, 需准备多个取样工具, 如需反复使用可在每次取样后用2%次氯酸钠溶液或核酸清洗液 (美仑货号: MMT069) 对工具表面进行清洁。
- 2、建议使用新鲜采取的小鼠组织, 取样量不宜过大, 以免影响扩增结果。
- 3、Lysis Buffer的保存条件为2~8°C, 若低温储存(≤0°C)可能会出现沉淀, 在使用前请务必充分溶解。
- 4、2×Mouse Tissue Direct PCR Mix应避免反复冻融, 短期内多次使用可置于2~8°C保存。
- 5、本产品仅适用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题与解答

问题	可能原因	建议
扩增无产物或产物量少	裂解产物过量	选择最合适的模板用量, 一般不超过体系的1/10
	DNA释放效率较差	可尝试延长裂解液与样本孵育时间
	Proteinase K没有充分灭活	灭活步骤可在沸水浴中进行
	PCR引物质量较差	使用基因组DNA进行扩增验证引物质量, 优化引物设计
非特异性扩增	引物特异性差	优化引物, 避免非特异性条带以及引物二聚体的扩增
	模板浓度过高	减少模板用量或将模板稀释10倍后扩增
	退火温度过低	尝试提高退火温度并设置退火温度梯度
	反应体系配制时温度高	建议在冰上配制PCR反应体系

S250701

大连美仑生物技术有限公司

官网: <https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱: 0411-62910999 sales@meilunbio.com

本产品仅供科研使用

