

## 鼠尾基因鉴定试剂盒 mouse tail direct PCR kit

目录号: SB-201

储存条件:  $-20^{\circ}\text{C}$  长期保存。

产品内容:

产品组成	SB-201
Buffer DS1	9ml
Buffer DS2	1 ml
2×Det PCR SuperMix	2.5 ml

本试剂盒专为小鼠快速基因型鉴定而研制，能够迅速从小鼠尾巴、耳朵或脚趾等组织中释放足量的基因组 DNA，消化时间仅需 15 分钟，无需抽提与纯化，可直接将消化产物作为模板进行 PCR 扩增。试剂盒中配有高扩增兼容性的 2xDet PCR SuperMix (Dye+)，PCR 反应时只需加入引物和模板即可进行扩增，扩增产物可直接点样电泳。PCR 产物的 3' 端带“A”，可进行 TA 克隆。

建议组织用量(以 50  $\mu\text{l}$  反应体系为例)

- 3~5 mm 小鼠尾尖
- 5~10 mm<sup>2</sup> 小鼠耳朵
- 1~2 个小鼠脚趾

## 质量控制

25  $\mu\text{l}$  PCR 反应体系中，以 1  $\mu\text{l}$  小鼠尾巴裂解产物为模板，扩增小鼠 *gapdh* 基因，30 个循环后取产物 5  $\mu\text{l}$  进行 1% 琼脂糖凝胶电泳，可见有单一的 2 kb 条带。

## 操作步骤

1. 按小鼠数量配制组织消化液，每个样本采用 45  $\mu\text{l}$  DS1 与 5  $\mu\text{l}$  DS2 混合，现用现配。
2. 向每个含有样本的 EP 管中加入 50  $\mu\text{l}$  新鲜组织消化液，55 $^{\circ}\text{C}$  水浴/金属浴中消化 15 min。组织消化时，务必将组织完全浸没于消化液中。消化完成后，组织外观上仍然完整，但足量的基因组 DNA 已经释放，不影响后续的 PCR 实验。
3. 将样本置于 95 $^{\circ}\text{C}$  水浴/金属浴中孵育 5 min 以灭活消化液中的蛋白酶。12000 rpm 离心 5min，取上清作为 PCR 模板。消化后的上清可于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存三个月。

## 反应实例

反应体系配制		PCR 反应循环设置	
Template	1 $\mu$ l	94°C	2 min
Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	94°C	10 sec
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	Tm-5°C	10 sec
2× DetPCRSuperMix	12.5 $\mu$ l	72°C	30 sec/kb
ddH <sub>2</sub> O	up to 25 $\mu$ l	72°C	5 min

\*最好于低温下配制，试剂全部加好后，瞬时离心，将所有试剂收集到管底。

\*结果检测：反应结束后取 5  $\mu$ l 反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

## 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. 提取物 4°C 可保存 1 个月，-20°C 可保存 3 个月。

## 实验流程图

