

Mouse Tissue Direct PCR Kit (With Dye) 小鼠组织直扩 PCR 试剂盒（含染料）

产品简介

本品可直接快速地对小鼠组织（如鼠尾、鼠耳、鼠趾、肌肉等）样本进行 PCR 扩增，具有极强的样本兼容性。本试剂盒配备了强力的裂解缓冲液，可以快速裂解样品，释放基因组 DNA。裂解液可以直接加入到 PCR 反应体系中，无需精提纯化，操作方便。此外，本试剂盒对样品投入量要求低，5 mg 小鼠组织或 1-5 mm 鼠尾即可进行实验。

本试剂盒提供的 2× Mouse / Tissue Direct PCR Mix 为 2 倍浓度的热启动 PCR 反应液，包含了用于 PCR 扩增除模板和引物外的所有组分，大大简化操作过程，降低污染几率。且含有示踪染料，PCR 产物可直接电泳。该试剂盒可用于转基因鉴定、小鼠基因分型等。

产品规格

产品货号	N132021E	N132021S
产品规格	50 T	200 T

组分信息

组分编号	组分名称	N132021E	N132021S	储存条件
N132021-A	Buffer ML	5×1 mL	20×1 mL	2-8°C
N132021-B	Buffer MT	0.6 mL	2×1.25 mL	-25~-15°C
N132021-C	2× Mouse Direct PCR Mix	500 µL	2×1 mL	-25~-15°C

【注】：

- 1) Buffer ML 为裂解缓冲液，包含强力蛋白变性剂，请戴手套操作。
- 2) Buffer MT 为终止缓冲液，用于终止 Buffer ML 的裂解功能。
- 3) 2× Mouse Direct PCR Mix：包含热启动 Taq DNA 聚合酶、dNTP 混合物、MgCl₂、反应缓冲液、PCR 反应增强剂、优化剂、稳定剂和电泳指示染料等。

产品储存

1. 组分 A【Buffer ML】，2-8°C 保存。如长时间未使用，请分装冻存，避免交叉污染。
2. 组分 B【Buffer MT】和组分 C【2× Mouse Direct PCR Mix】，-25~-15°C 保存，避免反复冻融。
3. 试剂盒有效期 1 年。

操作注意

- 1) 本产品 PCR 产物不适用于聚丙烯酰胺凝胶电泳。
- 2) 为了避免样本间交叉污染，每次取样后都需要将取样器材的刃口或与样本直接接触的部位浸入 2% 次氯酸钠溶液中，反复洗刷数次进行清洗，然后用干净的纸巾擦干残余液体后再进行使用。为了试验方

便，也可准备多个取样器材，在使用完后进行统一清洗，确保每一单独样本均使用的是无污染取样器材。

- 3) 建议使用新鲜采取的动物组织，若为长期冷冻组织，应尽量避免反复冻融，否则会导致模板的降解，影响 PCR 效率。
- 4) 建议扩增片段长度 1 kb 以内，以便扩增效率最佳。
- 5) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 6) 本产品仅作科研用途！

操作说明

样品基因组 DNA 释放

1. 剪取 5-10 mg 动物组织或 1-5 mm 鼠尾，置于 1.5 mL 离心管中；

【注】：组织应尽量剪碎，以便裂解反应更顺利进行。

2. 在上述离心管中加入 90 μ L Buffer ML，轻轻涡旋使得样品完全被裂解液浸润，短暂离心；
3. 在恒温孵育仪中设置 95°C 孵育 15 min；

【注】：95°C 孵育，一般 15 min 即可满足多数 PCR 需求。若需要的 DNA 量较大或样品较难裂解，可将时间延长至 30 min。

组织块不需完全裂解，残余的部分在后续离心步骤中可被除去。

4. 加入 10 μ L Buffer MT，轻弹混匀，终止裂解；
5. 选做步骤：12,000 rpm 离心 2 min；
6. 将上清转移至新的离心管，4°C 或 -20°C 保存或直接取上清用于后续 PCR 扩增。

PCR 反应鉴定——PCR 反应体系

表 1. PCR 反应体系

组分	体积 (μ L)	终浓度
2 $\times$ Mouse Direct PCR Mix	10	1 $\times$
Forward Primer (10 μ M)	0.5	0.2-0.4 μ M
Reverse Primer (10 μ M)	0.5	0.2-0.4 μ M
裂解产物 (DNA 模板)	1	-
无菌超纯水	To 20	-

【注】：各组分使用前应充分混匀。

- a) 模板使用量：建议按 1-10% 总体积量取用模板，20 μ L 体系建议采用 1 μ L 上清液作为模板；
- b) 引物终浓度：0.2-0.4 μ M 可以得到较好结果。反应性能较差时，可在 0.1-0.5 μ M 范围内调整引物浓度；
- c) 反应体系：推荐使用 20 μ L，也可根据使用习惯调整体系体积大小；
- d) 体系配制：配制好 PCR 反应体系，置于涡旋仪上涡旋混匀，瞬时离心将反应液集于管底。

PCR 反应鉴定——PCR 反应程序

表 2 PCR 反应程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	5 min	1
变性	94°C	10 sec	35***
退火*	60°C	20 sec	
延伸**	72°C	30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1

【Note】：*退火温度：请参考引物的理论 Tm 值，退火温度可设置低于引物理论值 2-5°C，或通过梯度 PCR 确定最佳温度。

**延伸时间：请按 30 sec/kb 设定。

***扩增循环数：35 个循环已可以扩增足量产物。

电泳上样：取 3-5 μ L 扩增产物上样即可。

对照反应：在 PCR 结果分析时，不管是阳性结果或阴性结果，如果没有对照反应，都不能确定结果是否可靠。为了便于后续实验结果的分析，建议在进行 PCR 时，设置阳性和阴性 PCR 对照反应以便于排除假阳性或假阴性的干扰。