

## 小鼠 Direct PCR 基因分型快速检测试剂盒 说明书

### 【产品描述】

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。

#### 产品组成

|                    |        |
|--------------------|--------|
| Buffer DS1         | 9 ml   |
| Buffer DS2         | 1 ml   |
| 2xDet PCR SuperMix | 2.5 ml |

### 【建议组织用量】 (以 50 $\mu$ 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  $\mu$ l PCR 反应体系中，以 1  $\mu$ 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  $\mu$ l 进行 1% 琼脂糖凝胶电泳，可见单一的 2 kb 条带。

### 【操作说明】

- 按小鼠数量配制组织消化液，每个样本采用 45  $\mu$ l DS1 与 5  $\mu$ l DS2 混合，现用现配。
- 向每个含有样本的 EP 管中加入 50  $\mu$ l 新配组织消化液，55.0 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。
- 瞬时离心。将 EP 管置于 95.0 水浴/金属浴中孵育 5 min 以灭活消化液中的蛋白酶。
- 12000x rpm 离心 1 min，取上清作为 PCR 模板。消化后的上清可于 -20°C 保存。

## 【实例应用】

| 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      | 95°C       | 10 sec    | 30-35cycles |
| Reverse Primer (10 $\mu$ M) | 0.5 $\mu$ l      | Tm-5°C     | 10 sec    | 30-35cycles |
| 2 $\times$ Det PCR SuperMix | 12.5 $\mu$ l     | 72°C       | 30 sec/kb | 30-35cycles |
| ddH <sub>2</sub> O          | up to 25 $\mu$ l | 72°C       | 5 min     |             |

## 【注意事项】

- 1、注意无菌操作，避免污染；
- 2、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。
- 3、提取物-20° C 可保存至少 6 个月。
- 4、操作时请穿实验服并戴一次性手套及口罩。
- 5、仅供科研使用。

## 【实验流程图】

