

# Triumfi Mouse Tissue Direct PCR Kit

## 货号

SD613

## 产品组成

组分	规格
2×Mouse Tissue Direct PCR Mix	5×1.0 mL
Lysis Buffer	2×20 mL
Proteinase K	800 $\mu$ L

## 保存条件

Lysis Buffer 2~8°C、其余组分-20°C保存 24 个月。

## 产品简介

本产品是一款专为小鼠基因型快速鉴定设计的试剂盒，包含 DNA 粗提取及 PCR 扩增体系。本产品可直接利用小鼠尾巴、耳朵、脚趾等组织经 Lysis Buffer、Proteinase k 简单裂解处理后进行 PCR 扩增，无需过夜消化、酚氯仿抽提或柱式纯化等操作，使用简便，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。

本产品所提供的 2×Mouse Tissue Direct PCR Mix 中，包含经过基因工程改造的 DNA 聚合酶、Mg<sup>2+</sup>、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和引物，并补水至 1×即可进行 PCR 反应，使用本产品扩增的 PCR 产物 3' 端带有一个突出的"A"碱基，纯化后可直接用于 TA 克隆。

## 产品特点

- 操作简便：无需提取基因组 DNA；
- 适用广泛：适用于多种小鼠组织的直接扩增。

## 适用范围

本产品适用于小鼠基因敲除分析、转基因检测、基因分型等。

## 注意事项

- 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洁剂对工具表面进行清洁；
- 建议使用新鲜采取的小鼠组织，取样量不宜过大，以避免影响扩增结果；
- Lysis Buffer 的保存条件为2~8℃,若低温保存可能会出现沉淀，在使用前务必充分溶解；
- PCR Mix 应避免反复冻融，短期内多次使用可置于 4℃保存。

## 使用方法

### 操作示例

#### 1. 基因组 DNA 的释放

##### 1) 裂解液配制

根据需要裂解的小鼠样品数量配制组织裂解液（组织裂解液应现用现配，且充分混匀后使用），单个样品所需试剂比例如下：

组分	体积
Proteinase K	4 $\mu$ L
Lysis Buffer	200 $\mu$ L

##### 2) 样品准备与裂解

推荐组织使用量

：

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 <sup>2</sup>	1~2 个

取适量小鼠组织样品于干净的离心管中，向每个离心管中加入 200  $\mu$ L 新鲜的组织裂解液，涡旋震荡后在 55℃下孵育 30 min，然后 98℃加热处理 3 min。

##### 3) 离心

将裂解产物充分震荡混匀，12,000 rpm 离心 5 min，上清液可作为模板直接用于 PCR 扩增。模板如需保存，可将上清液转移至另一个无菌离心管中，并置于-20℃保存，保存时间为2 周。

#### 2. PCR 扩增

将 2×Mouse Tissue Direct PCR Mix 从-20℃取出后置于冰上解冻，上下颠倒混匀后按下表配制 PCR 反应体系（冰上操作）：

组分	25 $\mu$ L 体系	50 $\mu$ L 体系	终浓度
2×Mouse Tissue Direct PCR Mix	12.5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	1 ×
Primer 1 (10 $\mu$ M)	1.0 $\mu$ L	2.0 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
Primer 2 (10 $\mu$ M)	1.0 $\mu$ L	2.0 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
裂解产物*	As require	As require	
ddH <sub>2</sub> O	Up to 25 $\mu$ L	Up to 50 $\mu$ L	

\*加入量不应超过体系的 1/10，加入量过高时，可能会抑制 PCR 扩增。

### 建议的 PCR 条件

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	5 min	1
变性	94°C	30 s	35~40 cycles
退火*	T <sub>m</sub> +3~5°C	30 s	
延伸	72°C	30 s/kb	
终延伸	72°C	5 min	1
-	4°C	Hold	-

\*退火温度：参考引物 T<sub>m</sub> 值，建议退火温度设置为引物中 T<sub>m</sub> 较小值+3~5°C；

## 常见问题与解决办法

### Q1：无目的条带？

**A1:**

- 1) 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；
- 2) 取样量过大。将裂解产物稀释 10 倍后扩增，或减少取样量重新裂解；
- 3) 组织样品不新鲜。建议使用新鲜的组织样品；
- 4) 引物质量差。使用基因组 DNA 进行扩增验证引物质量，优化引物设计。

### Q2：出现非特异扩增？

**A2:**

- 1) 退火温度过低、循环数过高。提高退火温度，减少循环数；
- 2) 模板浓度太高。减少模板用量或将模板稀释 10 倍后扩增；
- 3) 引物特异性差。优化引物设计。