

版本号: KG210831

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057 /400-810-6057 TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

1

Mouse Tissue Direct PCR Kit

小鼠组织直接PCR试剂盒

目录号: KG205

产品内容

产品组成	KG205-01 (25 μl × 50 rxn)	KG205-02 (25 μl × 200 rxn)
Tissue Lysis Buffer	5 ml	20 ml
Digestive Enzyme	200 µl	800 µl
2 × Dir PCR MasterMix	625 µl	2×1.25 ml
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml	2 × 1 ml

储存条件

组织裂解缓冲液Tissue Lysis Buffer和Digestive Enzyme在室温(15-30°C)干燥条件下可保存15个月; 2 × Dir PCR MasterMix在-30~-15°C条件下可保存15个月,多次冻融不会影响活性。

产品简介

本试剂盒采用独特的包装体系,包含了快速制备小鼠组织基因组DNA和后续PCR扩增的所有试剂,适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法提取基因组DNA并用于后续的PCR扩增和检测。整个提取过程不包含匀浆、破碎、过夜消化、酚氯仿抽提、DNA沉淀或柱式纯化等操作,实验操作简便、快捷,而且结果稳定可靠。

本试剂盒提供的2 x Dir PCR MasterMix是一种高扩增兼容性的PCR试剂,无需彻底去除蛋白等杂质,便能进行高效特异扩增。该预混Mix包含抗体修饰的Taq DNA聚合酶、dNTPs、 $MgCl_2$ 、反应缓冲液、PCR反应增强剂和稳定剂,操作时只需加入粗提模板和引物即可进行后续检测,具有操作简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点,特别适合于高通量的检测筛选。Mix中预混有电泳染料,可在反应结束后直接进行电泳检测,使用方便快捷。PCR产物的3'端带A,可进行TA克隆。

产品特点

简单快速:适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法基因鉴定。

高特异性:本产品所用Taq酶为抗体修饰热启动酶,具有高效的模板和引物亲和性及扩增特

异性,特别适合基因分型和转基因鉴定。

基因检测: 本产品操作简便, 结果可靠, 特别适合小鼠的高通量分析检测。

注意事项: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 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. 组织裂解缓冲液Tissue Lysis Buffer应放置于室温(15-30°C)保存,如放在低温保存时有 沉淀析出,可在37°C水浴中重新溶解沉淀,并摇匀溶液后使用。
- 3. 本产品提供的2 x Dir PCR MasterMix 为2x母液,使用时需加入模板和引物,并加入灭菌水补足体积,使其浓度为1x即可进行反应。

实验操作步骤

- 1. 第一次使用本试剂盒时,请仔细查看组织裂解缓冲液Tissue Lysis Buffer中是否有结晶析出,如有结晶请将该缓冲液于室温充分平衡至结晶完全溶解,或在37℃水浴中重新溶解沉淀摇匀后使用。组织裂解缓冲液溶解后在室温保存。
- 2. 按照下表配方配制组织消化液:

组成成分	体 积
Tissue Lysis Buffer	96 µl
Digestive Enzyme	4 µl
Total	100 µl

注意:消化液请尽量现用现配,以保证Digestive Enzyme的活性。

- 3. 取少量小鼠组织样品(约5~10 mg)于1.5 ml的离心管中,加入100 μl 组织消化液,确保组织样品完全浸润于组织消化液中,65℃处理30 min。期间每隔10 min左右轻弹管底,提高消化效率。
- 4. 消化结束后,瞬时离心,并于95~100°C下处理5 min。
- 5. PCR扩增反应。取1 µI上清用于PCR反应,参考PCR体系及扩增程序如下:

参考反应体系

PCR反应体系的建立, 25 µl体系如下:

组成成分	体 积
2 x Dir PCR MasterMix	12.5 µl
正向引物(10 µM)	0.5 µl
反向引物(10 μM)	0.5 µl
模板DNA	1.0 µl
RNase-Free ddH₂O	补至25 µl

试剂全部加好后,混匀并瞬时离心,将所有试剂收集到管底。

参考反应条件

温度	时间	循环数
95°C	3 min	1 cycle
94°C	30 sec	
55°C ^{▲1}	30 sec	35 cycles
72°C	1 kb/min	
72°C	5 min	1 cycle
4°C	Holding	1 cycle

^{▲1} 通常引物退火温度比引物的解链温度(Tm)低5°C,具体退火温度设定可根据引物情况进行调整。

结果检测

反应结束后取5~10 µl反应产物,进行琼脂糖凝胶电泳检测。

注意: 举例仅供参考,实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异,需根据实际情况设定适宜反应条件。操作中如发现管壁或管盖上有液体可以瞬时离心将其甩至管底。



TIANGEN 官方微信,专业服务助力科研:

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
 - 147 VIII 244
- 全线产品查询

- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

坚持 "CUSTOMER FIRST"理念 秉承"质量为天,服务为根"宗旨!

TIANGEN为您提供从样本处理, 核酸纯化到下游检测的整体解决方案

科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列

- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案
- 环境微牛物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案