

## 产品简介 / Product Introduction

本试剂盒专用于小鼠基因型的快速鉴定。仅需 1-2mm 小鼠尾部组织或脚趾，短短 15 分钟即可获取足够量的 DNA 模板直接用于 PCR 反应，无需抽提与纯化。

未提纯的 DNA 样品含有许多 PCR 抑制成分，对 PCR 酶的兼容性有很大要求。本试剂盒中配套的 DirectAmp PCR Mix 经过优化，对未提纯模板中的抑制成分有很强的耐受性，可兼容未提纯 DNA 模板，实现一步法 PCR 鉴定。DirectAmp PCR Mix 中含有 loading dye，PCR 后可直接跑凝胶电泳，省时方便。

## 产品优势 / Product advantages

- ◆ 更少的样品量：仅需 1-2mm 小鼠尾部组织或脚趾；
- ◆ 更快捷的操作：仅需 15min 极速完成样品处理，允许 96 孔板高通量操作；
- ◆ 更兼容的 PCR 体系：产品中的 DirectAmp PCR Mix 经独家优化，对未提纯模板中的抑制成分有很强的耐受性，DNA 模板无需抽提纯化，且 PCR 产物可直接跑凝胶，实现一步法 PCR 鉴定。
- ◆ 更长的扩增片段：目的片段扩增长度可达 3 k，区别于市面上的 2k 以内。

## 试剂盒组成 / Kit composition

组分	500次	1000次	储存温度
Tail Lysis	25mL	50mL	4°C
DirectAmp PCR Mix	5mL	10mL	-20°C

## 实验前准备 / Preparation before the experiment

镊子，手术剪，PCR 管/PCR 8 联管/96 孔 PCR 板，单道移液器/多道移液器，PCR 扩增仪，恒温金属（水）浴，小型高速离心机

## 鼠尾裂解释放 DNA / Mouse tail lysis releases DNA

### 01 散管操作

- ① 准备好镊子和手术剪，75%的乙醇喷洗消毒。
- ② 剪取 1-2 mm 鼠尾，用镊子夹到 PCR 管/PCR 8 联管中，加 50  $\mu$ L Tail Lysis，裂解液需没过鼠尾。
- ③ 将 PCR 管放到 95°C 金属浴中或者 PCR 仪中，孵育 15 min-30 min。

**注意：若样品为脚趾，孵育时间建议设置为 30 min。**

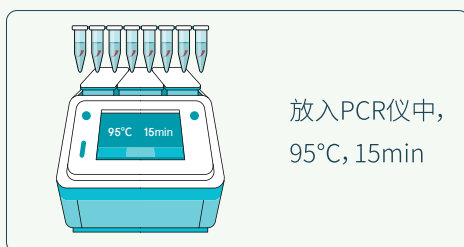
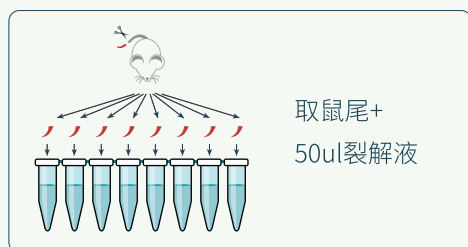
- ④ 把上清液移至 8 联管或者 96 孔 PCR 板中存放，样品可直接进行 PCR 实验，若暂时不使用，可保存在 -20 冰箱中（也可直接吸取上清加入到 PCR 体系中）。

## 02 96孔板高通量操作

- ① 准备好镊子和手术剪, 75%的乙醇喷洗消毒。
- ② 剪取 1-2 mm 鼠尾, 用镊子夹到 96 孔 PCR 板, 加 50 $\mu$ L Tail Lysis, 裂解液需没过鼠尾。
- ③ 将 96 孔 PCR 板放到 PCR 仪中, 95 $^{\circ}$ C, 孵育 15 min-30 min。

**注意:**若样品为脚趾, 孵育时间建议设置为 30 min。

- ④ 把上清液移至新的 96 孔 PCR 板中存放, 样品可直接进行 PCR 实验, 若暂时不使用, 可保存在-20冰箱中。



## PCR 鉴定 / PCR identification

将 DirectAmp PCR Mix 从-20 $^{\circ}$ C 冰箱取出, 放置在冰盒中融解, 按照下表配制 PCR 体系:

表 1. 实验样品配制体系

试剂	体积 (每反应)
DirectAmp PCR Mix, 2X	10 $\mu$ L
鼠尾裂解产物	1 $\mu$ L
鉴定引物 F (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L
鉴定引物 R (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	8 $\mu$ L
总体积	20 $\mu$ L

## PCR 反应程序 / PCR reaction program

PCR 产物可直接点样跑琼脂糖凝胶 (不需加 Loading Buffer), 或者送 Sanger 测序。

表 2. PCR 鉴定程序

步骤	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	3min	1 cycle
循环扩增	95 $^{\circ}$ C	15s	35~40 cycles
	60 $^{\circ}$ C	15s	
	72 $^{\circ}$ C	1min/kb	
延伸补偿	72 $^{\circ}$ C	5min	1 cycle

## 常见问题 / Frequently asked questions

### ① 鼠尾没有裂解完, 是否会有影响?

裂解 15 min 后鼠尾还有未裂解完部分, 但此时已裂解的样品释放出足够的基因组 DNA 可供后续实验了。若样品为脚趾这类带有较硬难消化的组织, 可把时间延长至 30 min。

### ② PCR 产物少或没有目的条带?

- a) 裂解后可以转移上清弃沉淀, 裂解液中的杂质抑制了 PCR 反应。
- b) 裂解液中的 DNA 含量太多, 可通过稀释裂解液模板解决; 或者 DNA 含量较少, 可延长裂解时间, 或者增加模板量。
- c) 引物设计问题。引物与模板不匹配, 或者设计时没有注意引物的 GC 含量、二级结构、二聚体、退火温度、长度、特异性等方面的问题。

d) 扩增序列 GC 含量偏高。在 PCR 体系中添加 GC Buffer 或者 DMSO 等变性剂, 帮助打开模板链, 降低 PCR 扩增难度。

### ③ 可以使用其他的 PCR 酶进行鉴定吗?

本试剂盒 Tail Lysis 处理后的样品为粗提核酸样品, 便于进行微量细胞的基因组提取和高通量操作, 但由于未经过纯化, 不能兼容所有的 PCR 试剂, 推荐配套的鉴定试剂 DirectAmp PCR Mix。

### ④ 可以扩增多大的片段?

由于粗提样本中含有抑制 PCR 反应的因子, 会影响 PCR 酶的活性, 建议扩增片段长度设计在 3k 以内。(如需扩增更大片段或者复杂序列请联系技术人员)