

版本号: FPI1815

## FineDirect Mouse Tissue PCR Kit

### FineDirect 小鼠组织直接 PCR 试剂盒

目录号: FP806

#### 产品内容:

产品组成	FP806-01 (25 $\mu$ l $\times$ 50 rxn)
Buffer ML	5.5 ml
Protease Plus	220 $\mu$ l
2 $\times$ M-PCR Mix	700 $\mu$ l
RNase Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml

#### 储存条件:

Buffer ML和Protease Plus可在室温(15-25°C)干燥条件下可保存12个月; 2 $\times$ M-PCR Mix冰袋运输, 收到后请保存于-20°C, 多次冻融不会影响活性。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

## 产品简介：

本试剂盒采用了具有专利配方的缓冲体系，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，高温孵育，去蛋白及其它杂质的过程，无需有机溶剂抽提，无需无水乙醇沉淀，简便、快捷，而且质量稳定可靠。

本试剂盒提供的 2 x M-PCR Mix 是一种扩增兼容性很强的 PCR 试剂，无需彻底去除蛋白等杂质，便能进行高效特异扩增，该试剂包含了抗逆热启动 DNA 聚合酶、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂及稳定剂，具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点，尤其适用于临床分子诊断产品的开发。

## 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：**2 x M-PCR Mix 中所用的聚合酶为抗体修饰的热启动酶，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。

## 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. Buffer ML应放置于室温保存，低温时如有沉淀析出，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 M-PCR Mix为2x母液，使用时需加入模板和引物，并加入RNase Free ddH<sub>2</sub>O补足体积，使其浓度为1 x 即可进行反应。

## 操作步骤：

1. 第一次使用本试剂盒时，请仔细查看 Buffer ML 中是否有结晶析出，如有结晶请将该 Buffer 置于 37°C水浴中重新溶解后摇匀使用。
2. 按照下表配方配制组织消化液：

组成成分	体积
Buffer ML	96 $\mu$ l
Protease Plus	4 $\mu$ l
Total	100 $\mu$ l

**注意：消化液请尽量现用现配，以保证 Protease Plus 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  $\mu$ l 组织消化液，

确保组织样品完全浸润于组织消化液中，65°C处理 30 min。期间每隔 10 min 左右轻弹管底，提高消化效率。

**注意：加热处理前，使用塑料研磨杵手工研磨可进一步提高裂解效率。**

4. 消化结束后，瞬时离心，并于 95-100°C下处理 5 min。

5. 12,000 rpm 离心 5 分钟，取上清作为 PCR 模板。

**注意：上清可置于-20°C长期保存。**

6. PCR 扩增反应。取 1  $\mu$ l 上清用于 PCR 反应，参考 PCR 体系及扩增程序如下：

### PCR 反应体系：

PCR 反应体系的建立，25  $\mu$ l 体系如下：

组成成分	体积
2 $\times$ M-PCR Mix	12.5 $\mu$ l
Primer F (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l
模板 DNA(消化产物)	1 $\mu$ l
RNase Free ddH <sub>2</sub> O	补足 25 $\mu$ l

试剂全部加好后，混匀后瞬时离心，将所有试剂收集到管底。

### PCR 反应条件：

温度	体积	
95°C	3 min	1 cycle
94°C	30 sec	35 cycles
55°C <sup>§</sup>	30 sec	
72°C	1 kb/min	
72°C	5 min	1 cycle

<sup>§</sup>通常引物退火温度比引物的解链温度 (T<sub>m</sub>) 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  $\mu$ l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最佳反应条件。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。**

实验方法:

