

# AdeptTect 小鼠组织快速PCR试剂盒(含染料)

AdeptTect Mouse Tissue Fast PCR Kit (dye plus)

Code No. AG12310

**包装量:** 120 rxns / 50  $\mu$ l  
**保存温度:** -20  $^{\circ}$ C

## 产品概述

本产品专为快速对小鼠组织（鼠尾、鼠趾、鼠耳等）进行 PCR 扩增反应而研制，配备强力的组织消化液，能够迅速地从小鼠尾巴等组织中释放足量的基因组 DNA，产物可直接进行 PCR 扩增，无需过夜消化、酚氯仿抽提或柱式纯化等操作，缩短了实验耗时，简化了操作过程以及降低了污染几率。

同时本产品具有极高的扩增效率及耐受性，对简单或复杂模板、短片段或长片段的 PCR 扩增都具有良好的适应性，可耐受 20% 鼠尾裂解液模板。

本产品具有较快的延伸速度，可在短时间内获得检测结果。进行 PCR 反应时，只需向预混液中加入模板、引物和水即可进行扩增；同时本产品中还加入了电泳检测时所需的色素试剂，溶液呈现紫红色；PCR 反应完后可以直接进行琼脂糖凝胶电泳。这种预混液方案操作简便，可最大限度地减少人为误差。

本产品中还添加了在常温状态下能够抑制 DNA polymerase 活性的单克隆抗体，可以进行 Hot Start PCR，有效的抑制引物二聚体的形成及非特异性扩增。本产品扩增得到的 PCR 产物 3' 端不含 A 碱基，因此不可直接用于 TA 克隆。

## 保存及运输

保存温度：-20 $^{\circ}$ C

运输温度：干冰运输或-20 $^{\circ}$ C冰袋运输

## 产品组成

2X Mouse Tissue Fast PCR Master Mix (dye plus)	500 $\mu$ l X 6 pcs
Mouse Tissue Lysis Buffer	12 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	120 $\mu$ l

## 实验操作

### 1. 样本的处理:

a) **纯化后的 DNA**：加入  $\leq$ 500 ng 纯化后的 DNA 至 PCR 反应液中进行反应即可。

### b) 简单裂解方法：（现配现用）

① 取 2~5 mm 鼠尾\*1（鼠耳、鼠趾）（样本加入量可参考 Table. 1 简单裂解样本加入量表）；

② 往样本中加入 100  $\mu$ l 的 Mouse Tissue Lysis Buffer 和 1  $\mu$ l Proteinase K，充分混匀；

③ 60 $^{\circ}$ C 反应 5 min\*2（反应时间一般推荐 5 min，若裂解效果不好，可适当的延长裂解时间，在 5~30 min 范围内调整）；

④ 98 $^{\circ}$ C 反应 2 min；反应完后将裂解样本放置于冰上；

⑤ 室温下桌面离心将不溶物离心至管底\*3，将上清液转移至新的离心管中；放置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 备用；配制后应尽快使用，若当天不使用，可保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C；

⑥ 取 5  $\mu$ l 的上清液，按照本产品进行 PCR 反应（上清液体积根据实验结果进行调整，如在 2~5  $\mu$ l 范围内调整）。

Table. 1 简单裂解样本加入表

样本类型	简单裂解样本添加量
鼠耳	4-10 mm <sup>2</sup>
鼠尾	2-5 mm
鼠趾	1-2 根鼠趾

- \*1: 小鼠组织不易剪切太长, 应尽量剪碎, 以便裂解更充分; 裂解后样本应尽快使用, 防止冻存过久或反复冻融导致基因组 DNA 降解。
- \*2: 若目的基因为较难扩增的基因、裂解的组织取自生长周期较长的成熟小鼠或组织冻存时间较长, 可适当延长裂解时间 (5min~30min 范围内调整)。
- \*3: 裂解后的产物充分离心, 去除杂质, 减少杂质对扩增反应的影响。

## 2. PCR反应

### 反应体系<sup>\*1</sup> (50 $\mu$ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X Mouse Tissue Fast PCR Master Mix(dye plus) <sup>*2</sup>	1X	25 $\mu$ l
Template	-	$\leq 5 \mu$ l <sup>*3</sup>
Primer F (10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>*4</sup>	1 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>*4</sup>	1 $\mu$ l
RNase free water	-	Up to 50 $\mu$ l

- \*1: 为了获得更好的扩增特异性, 建议在冰上配制反应液; 推荐使用 50  $\mu$ l 体系, 可获得较好的 PCR 扩增效果; 若改变反应总体积, 则应按比例减少各组分的加入量 (例如 25  $\mu$ l 体系中, 模板添加量应降低为 2.5  $\mu$ l)。
- \*2: 溶液应避免反复冻融, 防止降低酶活性; 首次使用时, 短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部后进行使用, 减少损失; 使用时应轻柔混匀 (避免起泡), 缓慢吸取。

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.

- \*3: 使用纯化的 DNA 模板, 一般推荐  $\leq 500$  ng; 简单裂解后的模板推荐用量 5  $\mu$ l (50  $\mu$ l 体系), 具体可根据实验结果调整 (2-5  $\mu$ l); 若裂解模板中的基因含量较少, 可适当增大模板添加量, 最大不超过体系的 20% (10  $\mu$ l)。
- \*4: 引物通常使用终浓度为 0.2  $\mu$ M, 可根据实验结果在 0.1~0.4  $\mu$ M 范围内调整。

### 反应条件 (以三步法 PCR 扩增为例<sup>\*6</sup>)

步骤	温度	时间	循环数
预变性 <sup>*1</sup>	98°C	2 min	1
变性 <sup>*2</sup>	98°C	10 sec	} 30-35 <sup>*5</sup>
退火 <sup>*3</sup>	55°C	30 sec	
延伸	68°C	20 sec / kb <sup>*4</sup>	

- \*1: 若扩增直接样本或简单裂解产物, 一般将预变性设置为 98°C 2 min (可在 2-5 min 范围内调整)。若扩增纯化后 DNA 模板, 根据不同的目的片段, 可省略预变性步骤。
- \*2: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般 94°C 10-15 sec, 98°C 5-10 sec。
- \*3: 退火温度主要取决于上下游引物的 T<sub>m</sub> 值, 通常可按照 T<sub>m</sub>  $\pm$  5°C 设定, 对于特异性较差的引物可适当调高 T<sub>m</sub> 值 (~60°C)。
- \*4: 4 k 以内片段延伸速度推荐 20 sec / kb, 可根据需求在 5 ~ 30 sec / kb 范围内调整, 4 k 以上或较复杂片段扩增速度推荐在 30 sec ~ 1 min / kb 范围内调整。
- \*5: 一般推荐使用 30 个循环进行扩增, 若扩增条带较弱, 可尝试增加循环数。
- \*6: 当引物 T<sub>m</sub> 值较高或三步法 PCR 扩增结果不好, 可尝试两步法 PCR 扩增。

## ➤ 结果检测

反应结束后, 取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。