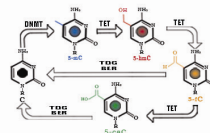




艾德科技（北京）有限公司  
A&D Technology Corporation

A&D, Lab Good Parters !



地址：北京市昌平区中关村生命科学园路东60米  
电话：010-52406250/57225208  
技术电话：18911529660 技术QQ：1951545998

网址： [www.aderr.com](http://www.aderr.com)     E-MAIL: [tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)

## Mouse Tail SuperDirect™ PCR Kit

TP-0132T	50Preps
TP-01321	200Preps
TP-01322	500Preps
TP-01323	1000Preps
TP-01324	2000Preps



## 目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	3
产品质量控制	3
试剂盒内容	4
储存条件	4
试剂盒组分信息	4
注意事项	5
操作前准备事项	5
操作指南	6
对照反应	8
阳性对照	8
阴性对照	8
操作示意图	9
问题分析指南	10

## 产品介绍

本产品采用独特的裂解缓冲液体系可以快速的从鼠尾样本中释放出基因组 DNA，用于 PCR 反应，因此特别适合大规模基因检测。

裂解缓冲液释放基因组 DNA 过程在室温条件下 10-30 min 内完成，不需加热处理，不需要其他去蛋白、RNA 等的过程，即可将释放出的微量 DNA 作为模板进行 PCR 反应。

2xM-PCR Easy™ Mix 具有很强的 PCR 反应抑制物耐受性，能以待测样本的裂解液为模板，进行高效特异性扩增。该试剂包含 Foregene Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 优化剂和稳定剂。与裂解缓冲液配合使用能够快速简便地对样品进行检测，并具有灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点。

## 产品特点

- ◆ 无需进行费时而昂贵的 DNA 纯化。
- ◆ 样品需求量小，只需取 2mm 以上的鼠尾即可。
- ◆ 操作简便，无需加热处理即可将鼠尾组织裂解，无需加热灭活蛋白酶，裂解产物可直接进行 PCR 反应。
- ◆ 处理后的鼠尾还可用 Foregene 鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒进行基因组 DNA 提取。
- ◆ 优化的 PCR 体系，使 PCR 具有更高的特异性、更强的 PCR 反应抑制物耐受性。

## 试剂盒应用

- ◆ 样本裂解释放的 DNA：仅用作 PCR 模板。
- ◆ 试剂盒可用于以下用途：转基因小鼠的鉴定等。

## 产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准，每一批次的产品都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

## 试剂盒内容

Mouse Tail SuperDirect™ PCR Kit					
鼠尾直接 PCR 试剂盒					
试剂盒组成	TP-0132T	TP-01321	TP-01322	TP-01323	TP-01324
	50 次	200 次	500 次	1000 次	2000 次
Buffer NP	3ml	12ml	30ml	60ml	120ml
Foregene Protease Plus I	55µl	220µl	550µl	1.1ml	2.2ml
2x M-PCR Easy™ Mix	550µl	2.2ml	5.5ml	11ml	22ml
说明书	1 份	1 份	1 份	1 份	1 份

## 储存条件

### A：试剂盒保存

- 本试剂盒的 2xM-PCR Easy™ Mix 保存在-20℃；若频繁使用，也可置于 4℃短期保存（10 天内用完）。
- Foregene Protease Plus I 具有独特配方，常温保存（25℃）可长期具有活性；在 4℃保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于在 4℃保存。
- Buffer NP 在常温干燥条件下，可保存 12 个月，如需保存更长时间可置于 4℃。

### B：鼠尾裂解液保存

- 立即作为模板进行 PCR 反应。
- 由于裂解液释放出来的 DNA 不纯，不适合长期储存，建议现做现用。测试显示，鼠尾裂解液在室温存放 1 天、或 4℃存放 2-3 天后，仍然能够扩增出目的条带；若需较长时间保存，可将鼠尾裂解液置于-20℃存放。

## 试剂盒组分信息

- Buffer NP：提供鼠尾组织裂解反应所需的环境。
- Foregene Protease Plus I：高效蛋白酶室温条件裂解鼠尾组织。
- 2x M-PCR Easy™ Mix：包括福际生物特别改造的热启动 Taq DNA Polymerase、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、Taq Reaction Buffer、优化剂以及稳定剂等。PCR 反应时，只需将适当的鼠尾裂解液、引物添加到 2xM-PCR Easy™ Mix 中即可用于 PCR 反应。

## 注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- 样品应避免反复冻融，否则会导致作为PCR模板的DNA片段较小，影响PCR效率。
- 2×M-PCR Easy™ Mix应避免反复冻融，否则会影响PCR效率。
- 如果环境温度过高，2×M-PCR Easy™ Mix可能会变浑浊，可置于冰上放置1-2min，待溶液澄清，上下颠倒混匀3-5次后再使用。

## 操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。Mouse Tail SuperDirect™ PCR Kit 操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的完整信息和正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

## 实验材料和设备

- ◆ 2mm 以上的鼠尾组织（新鲜的、冷冻保存的）。
- ◆ 1.5ml 无菌离心管、0.2ml 无菌 PCR 管。
- ◆ 台式离心机（≥13,400×g）、PCR 仪、移液器等。

## 安全性

Foregene Protease Plus I：增敏剂，刺激性。

## 操作指南

### A. 样本 DNA 释放

1. 在离心管中加入 50 $\mu$ l Buffer NP, 1 $\mu$ l Foregene Protease Plus I, 轻微涡旋混匀。

**注意:** Buffer NP 与 Foregene Protease Plus I 混合后不宜长期保存, 配制后请尽快使用。

2. 剪取 2mm 以上的鼠尾, 将断口朝下浸入步骤 1 的裂解液中, 置于室温(25 $^{\circ}$ C)放置 10-30min。

**注意:** 室温孵育, 一般只需 10min 即可满足多数 PCR 需求。若环境温度较低 ( $\leq 20^{\circ}$ C)、或需要的 DNA 量较大、或样品较难酶解, 可以将处理温度提升至 50 $^{\circ}$ C, 裂解时间延长至 30min 以达到更好的检测效果。

3. 鼠尾裂解液按照操作步骤 B 进行 PCR 反应。

**注意:** (1) 鼠尾裂解液保存时, 鼠尾无需从裂解液中取出。鼠尾裂解液在室温放置 1 天、或 4 $^{\circ}$ C 放置 2-3 天后, 仍然能够扩增出目的条带; 若需较长时间保存, 可将鼠尾裂解液置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。(2) 处理后的鼠尾还可用于基因组 DNA 提取, 可按照 Foregene 鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒进行操作。

### B. PCR 反应鉴定

1. 在 PCR 管内加入 2 $\times$ M-PCR Easy™ Mix 以及引物待用。
2. 按照 PCR 体系 20%的比例将裂解产物加入上述配制的 PCR 体系中(体系配制见表一)。

**注意:** 裂解产物的加入量不能超过 20%, 以免抑制 PCR 反应; 加入裂解产物后, 若不立即进行 PCR, 需置于 4 $^{\circ}$ C 保存。保存时间不宜超过 5h, 以避免 PCR 反应体系被抑制。

#### PCR 反应体系配制(表一)

PCR 体系添加内容	用 量		终 浓 度
2 $\times$ M-PCR Easy™ Mix	10 $\mu$ l	25 $\mu$ l	1 $\times$
Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	1 $\mu$ l	0.2-0.25 $\mu$ M *
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	1 $\mu$ l	0.2-0.25 $\mu$ M *
DNA模板	4 $\mu$ l	10 $\mu$ l	
ddH <sub>2</sub> O(灭菌蒸馏水)	5 $\mu$ l	13 $\mu$ l	
Total Volume	20 $\mu$ l	50 $\mu$ l	

\*：通常引物终浓度为 0.2-0.25 $\mu$ M 可以得到较好结果。反应性能较差时，可以在 0.1-0.5 $\mu$ M 范围内调整引物浓度。

注意：配制好 PCR 反应体系，置于涡旋仪上涡旋混匀，瞬时离心将反应液集于管底。

3. 根据优化好的 PCR 条件（退火温度等）进行 PCR 反应（反应条件见表二）。

注意：尽量使用优化后的条件进行 PCR 反应，可以得到更好的结果。

### PCR 反应条件举例（表二）

步骤	温度	时间	循环数	内容
1	94℃	5min	1	预变性
2	94℃	10sec	30-40	变性
3	45-70℃	20sec		引物退火
4	72℃	x min (1kb/min)		延伸
5	72℃	5min	1	终延伸

注意：PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在具体操作中需要根据模板类型、目的片段大小、扩增片段的碱基序列和引物的 GC 含量及长短等具体情况来设计最佳的反应条件，包括退火温度，延伸时间等。

4. 琼脂糖凝胶电泳检测结果。

## PCR 对照反应

在PCR结果分析时，不管是阳性结果或阴性结果，如果没有对照反应，我们都不能确定结果是否可靠。为了便于后续实验结果的分析，我们建议在进行PCR时，设置阳性和阴性PCR对照反应以便于排除假阳性或假阴性的干扰。

### A：阳性对照

选用容易扩增的样本保守基因的引物和采用纯化的样本DNA作为模板进行阳性对照反应以确定PCR反应体系和条件的正确性以及2xM-PCR Easy™ Mix有效性。其反应体系的配制见表三。

**阳性对照反应体系配制(表三)**

PCR 体系添加内容	用 量		终 浓 度
2xM-PCR Easy™ Mix	10μl	25μl	1x
Forward Primer (10μM)	0.5μl	1μl	0.2-0.25μM *
Reverse Primer (10μM)	0.5μl	1μl	0.2-0.25μM *
DNA模板	Xμl	Xμl	100-200ng
ddH <sub>2</sub> O(灭菌蒸馏水)	(9-X) μl	(23-X) μl	
Total Volume	20μl	50μl	

1\*：引物可选用该样本比较容易扩增的保守基因的引物，如β-Actin基因（请确保这些引物的可用性）。

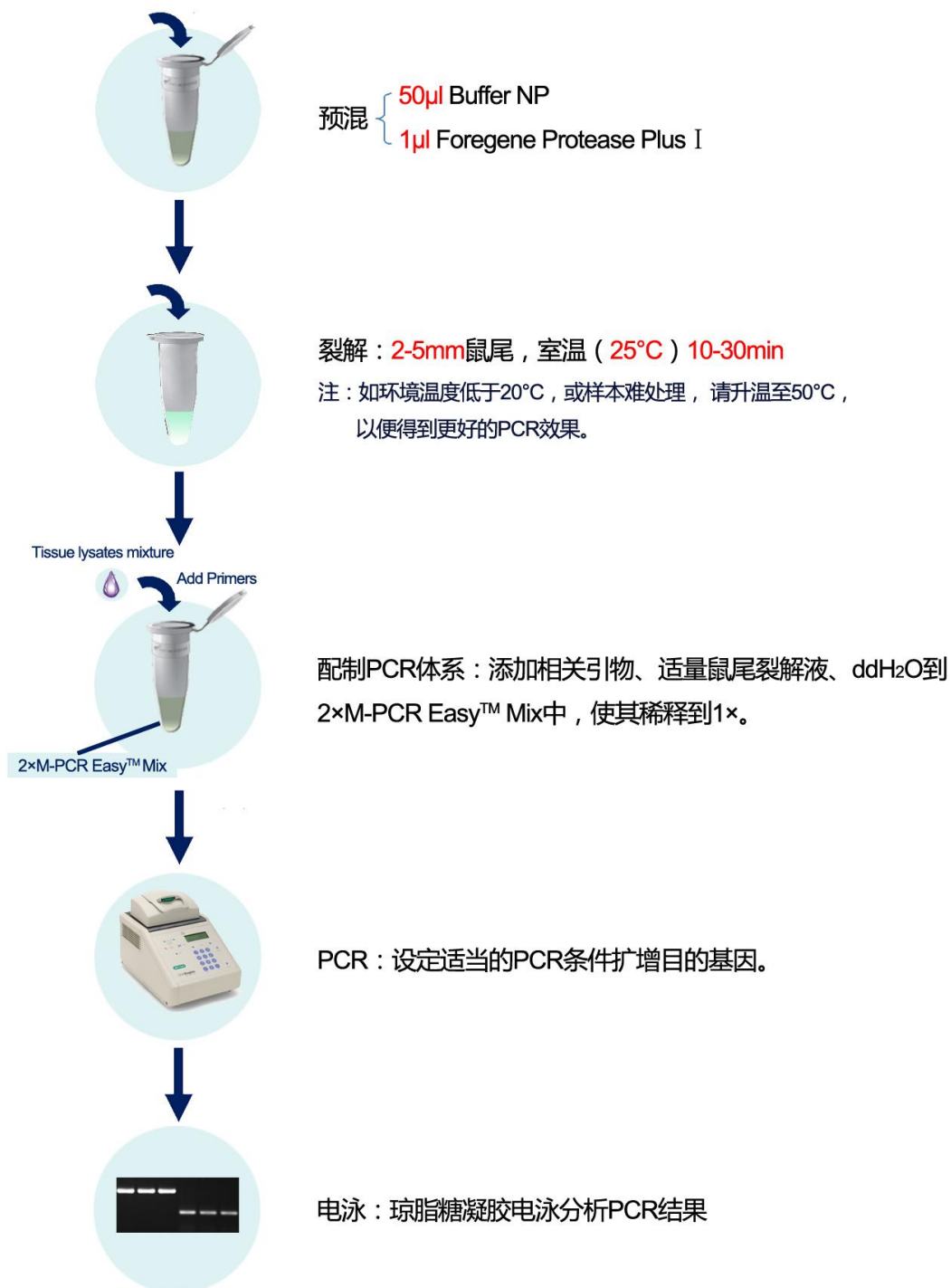
2\*：可选用样本纯化的DNA，也可根据实验需要，自行选择。

### B：阴性对照

PCR反应体系被污染会导致PCR结果出现假阳性，需要设置阴性对照来排除。取ddH<sub>2</sub>O作为模板，用目的基因引物进行PCR扩增，检测PCR体系是否被污染。



## 操作示意图



## 问题分析指南

以下针对鼠尾直接 PCR 试剂盒在使用中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-66070618 或 E-mail:

[Tech@foregene.com](mailto:Tech@foregene.com)。

在试剂盒的实用过程中往往会遇到许多问题，比如：没有 PCR 扩增产物、PCR 特异性差等，下面就分别对使用新鼠尾直接 PCR 试剂盒可能会遇到的问题进行分析。建议在直接 PCR 的同时设置阳性对照或阴性对照以便后续分析实验结果。

现象	原因	建议
正对照、待测样本均无条带	PCR 反应体系或反应条件不合适。	使用梯度 PCR 摸索 PCR 最佳反应条件。
	PCR 试剂保存不当失去活性。	2xM-PCR Easy™ Mix 应存于-20℃，使用时避免反复冻融。若使用频繁，可在 4℃ 短时间存放。
	引物设计问题。	尝试重新设计引物进行检查。
正对照有目的条带，待测样本无条带或条带弱	组织裂解不充分。	可进一步剪碎鼠尾组织、延长裂解时间或将裂解温度提升至 50℃。
	裂解产物加入 PCR 反应体系后放置过久。	将裂解产物加入 PCR 反应体系后需尽快进行 PCR。若需放置，4℃ 条件下不宜超过 5h。
	裂解产物保存不当或保存时间过久，基因组 DNA 已经降解。	裂解产物可在 4℃ 保存 2-3 天，若放置时间较长，可置于-20℃ 保存。尽量使用新制备的裂解产物进行 PCR。
	抑制物质过多。	可用水或 TE Buffer 将裂解产物进行 10~100 倍稀释后，再作为模板进行 PCR。
	PCR 循环数不足。	适当增加 PCR 的循环数，推荐在 30-40 循环为佳。

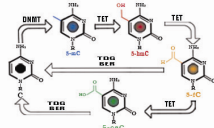
非特异性扩增	退火温度偏低。	适当提高退火温度。
	PCR 循环数过多。	适当降低循环次数，推荐在 30-40 循环为佳。
	引物浓度偏高。	适量降低引物用量。
	模板加入量过多。	可用水或 TE Buffer 将裂解产物进行 2~5 倍稀释后，再作为模板进行 PCR。
空白对照出现目的条带	操作工具或试剂污染。	实验所有试剂或器材均应高压灭菌。操作时应小心轻柔，防止将 DNA 样品吸入加样枪内或溅出离心管外。

# 中国·福际      World's Foregene



A&D, Lab Good Partners !

艾德科技（北京）有限公司  
A&D Technology Corporation



地址：北京市昌平区中关村生命科学园路东60米  
电话：010-52406250/57225208  
技术电话：18911529660 技术QQ：1951545998

网址：[www.aderr.com](http://www.aderr.com)

E-MAIL:[tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)

