



ELK Biotechnology

For research use only.

小鼠组织直接PCR试剂盒

货号	规格	储藏/有效期
EP033-01	50T	-20C°/三年
EP033-02	200T	-20C°/三年

产品介绍

本试剂盒是一款专门为小鼠转基因鉴定、基因分型设计的试剂盒，可直接快速地从小鼠组织（如鼠尾、鼠耳、鼠趾、肌肉等）样本中一步法提取基因组DNA并用于后续PCR扩增和检测。整个过程无需匀浆、破碎、过夜消化、酚氯仿抽提、DNA沉淀或柱式纯化等操作。且所需样品量少，仅需5-10 mg小鼠组织或1-5mm鼠尾即可进行鉴定。

本试剂盒提供的2xDirect PCR Mix是一种高扩增兼容性的PCR预混液，无需彻底去除蛋白等杂质，即可进行高效特异扩增。该预混液包含了抗体修饰的Hot Star Taq DNA Polymerase、dNTPs、Mg²⁺等组分，使用时只需要添加模板和引物即可。

2xDirect PCR Mix中预混有电泳染料，可在反应结束后直接进行电泳检测。PCR产物的3'端带A，可进行TA克隆。

试剂组成

组分	50T	200T
Tissue Lysis Buffer	1.25 ml*4	20 ml
Digestive Enzyme	250 µl	1 ml
2x Direct PCR Mix	500 µl	1ml*2
ddH ₂ O	1 ml	4 ml
说明书	1 份	1 份



ELK Biotechnology

For research use only.

产品特点

1. 简单快速：适用于从鼠尾、鼠耳、鼠趾等组织中一步法基因鉴定
2. 高特异性：本产品使用抗体修饰的热启动Taq酶，具有高效的模板亲和性以及扩增特异性。

产品应用

1. 小鼠转基因鉴定、基因分型
2. 无需提取基因组DNA，操作简便

注意事项

1. 取材时应避免样本间的交叉污染。
2. 建议使用新鲜的动物组织。若为长期冷冻组织，应尽量避免反复冻融，否则会导致模板降解，影响PCR效率。
3. 建议扩增片段长度在2kb以内，以便有最佳扩增效率。



ELK Biotechnology
For research use only.

操作步骤

样品基因组DNA释放

1、第一次使用本试剂盒时，请仔细查看组织裂解缓冲液Tissu Lysis Buffer中是否有结晶析出，如有结晶，请将缓冲液置于室温充分平衡至结晶完全溶解，或于37°C水浴中重新溶解沉淀。裂解缓冲液溶解后于室温保存。

2、按照下表配方配制组织消化液

组分	体积 (uL)
Tissu Lysis Buffer	95
Digestive Enzyme	5

注：消化液建议现配现用，以保证Digestive Enzyme活性。

3、取少量组织样本（约5~10 mg，鼠尾约1~5mm）于离心管中，加入100uL组织消化液，确保组织样本完全浸润于组织消化液中，55°C处理30 min，期间可多次震荡混匀，提高组织消化率。

4、12000rpm离心2min，转移上清至新的离心管，4°C或-20°C保存。也可直接取上清用于后续PCR扩增。

PCR鉴定

在进行PCR鉴定时，建议设置阴性或阳性反应，以便排除假阳性或假阴性干扰。

1、反应体系

组分	体积 (uL)	终浓度
2x Direct PCR Mix	10	1x
Forward primer (10uM)	0.5	0.2~0.4 uM
Reverse primer (10uM)	0.5	0.2~0.4 uM
裂解液上清 (DNA模板)	1	-
ddH2O	补足至20uL	-

注：各组分使用前应重复混匀。

- 模板使用量：建议按1-5%总体系量取用模板。
- 反应体系：推荐使用20ul，也可以根据使用习惯调整。
- 反应体系配制完成后，体系需要混匀并瞬时离心。



ELK Biotechnology
For research use only.

2、扩增程序

循环步骤	温度 (°C)	时间	循环数
预变性	94	1-5 min	1x
变性	94	30 sec	35x
退火	60	30 sec	
延伸	72	30 sec/kb	
终延伸	72	10 min	1x

注：a) 退火温度：参考引物理论 T_m 值，可设置低于理论值2-5°C。如果扩增产物特异性较差，或上下游引物 T_m 值相差较大，可先进行退火温度梯度预实验，以得到最适退火温度。

扩增产物鉴定

1、反应结束后，取6ul扩增产物直接进行琼脂糖凝胶电泳，无需额外添加Loading Buffer。