



小鼠基因型快速鉴定试剂盒

Mouse Genotype Rapid Identification Kit

产品组成:

产品名称	AK103-01 (100rxns)
1×Mouse Lysis Buffer	5ml×4
2×HotStrat Taq PCR Master Mix	1ml×3

保存条件: -20℃

产品简介:

本试剂盒适用于小鼠基因型的快速鉴定, 无需破碎, 酚氯仿抽提等操作, 仅需将组织浸泡在裂解液中, 55℃孵育 30min, 95℃加热 5min, 裂解产物可直接进行 PCR 扩增。本试剂盒可用于小鼠尾巴, 耳朵以及脚趾等组织。

试剂盒中含有扩增所用试剂 2×HotStrat Taq PCR Master Mix, 本产品含有热启动 Taq 酶, dNTP 以及优化的缓冲体系, 仅需加入引物与模板即可进行扩增, 减少交叉污染, 提高扩增特异性。

使用方法:

1. 组织推荐使用量:

小鼠尾巴: 1-3mm

小鼠耳朵: 2-5mm²

小鼠脚趾: 1-2 个

2. 取小鼠组织放入 0.2ml PCR 管中, 加入 200μl 1×Mouse Lysis Buffer, 轻弹管壁, 使小鼠组织完全浸泡在裂解液中。

3. 55℃孵育 10-30min; 95℃加热 5min。

4. 取裂解产物 2-5μl 进行扩增。

5. 扩增体系和程序推荐:

组分	体积
裂解产物	2-5μl
2×HotStrat Taq PCR Master Mix	25μl
上游引物 (10μM)	1μl
下游引物 (10μM)	1μl
H ₂ O	补足 50μl

95℃	5min	32-35cycle
95℃	10-30sec	
55℃	10-30sec	
72℃	60sec/kb	
72℃	5min	
4℃	Hold	

注: 裂解产物加入量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。

退火温度需要根据引物 T_m 值进行调整。

常见问题及解决方案:

1. 小鼠尾巴扩增效果差。

① 经过多种基因扩增经验, 取鼠尾时建议先剪去 1mm 左右尾尖, 再取 1-3mm 作为样品进行裂解。

原因: 尾尖毛发较多, 裂解液很难完全浸入。剪去尾尖后再取样, 增加剪切面更容易裂解, 释放基因组。

② 扩增时可减少裂解产物模板量至 0.5-1μl。

2. 小鼠趾甲裂解效果不好

① 可以把组织块剪大一些, 即与指甲接触的肌肉部分, 增加裂解液接触面积。

② 可以从 PCR 体系、反应程序 (设置阳性对照) 上优化。

3. 裂解组织后是否可以用分光光度计测浓度

不可以, 因为裂解组织后含有 buffer, 蛋白酶 K 等, 而且 DNA 的浓度低, 测量浓度容易虚高。

用两对引物同时扩增, 扩增效果差

① 两对引物可能会互相干扰, 建议单独扩增。或调整两对引物使用的比例。

② 重新设计引物, 在保证引物特异性的前提下, 使四条引物的 T_m 值尽量接近, 差值不要太大 (2-3℃); 如果不重新设计引物, 也可以适当调整退火温度, 同时, 适当延长退火时间 (30s-1 min)。

20240429