

TransDirect® Mouse Genotyping Kit

直接小鼠基因分型试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AD501

保存: -18°C及其以下温度下保存两年。

产品说明

本试剂盒采用独特的裂解液裂解小鼠基因分型常用的耳朵、脚趾、尾巴（新鲜或冻存）等组织，所得裂解物无需纯化即可直接作为模板，用高效率、抗抑制的2×TransDirect® Mouse Genotyping SuperMix (+dye) 进行扩增，扩增产物可直接点样电泳。

特点

- 直接以裂解物为模板进行PCR，操作简便，适合高通量实验。
- 扩增效率高，可进行5对引物多重PCR，适用于小鼠的PCR快速基因分型等。

试剂盒组成

Component	AD501-01 (100 rxns)	AD501-02 (500 rxns)
AD1 Buffer	12 ml	60 ml
AD2 Buffer	3 ml	15 ml
2×TransDirect® Mouse Genotyping SuperMix (+dye)	1 ml	5×1 ml
10×GC Enhancer	1 ml	5×1 ml
Nuclease-free Water	5 ml	25 ml

操作步骤

A: 模板制备

- 1、在0.2 ml PCR管中加入120 μl的AD1 Buffer和30 μl的AD2 Buffer，吹吸或涡旋振荡混匀。
(如提取的样品多，可提前将两者按4:1的比例预混，两小时内使用，使用时每管分装150 μl。)
- 2、在上述Buffer中加入如下量的样品(剪碎后加入):
鼠耳: 打直径3 mm的圆孔或者剪下近似大小的耳朵
鼠趾: 约2 mm长 (不含指甲的长度) 左右的脚趾
鼠尾: 约2 mm的尾尖
- 3、将PCR管置于PCR仪中，55°C 孵育10分钟后，95°C 孵育3分钟。
注意: 若样品未剪碎或样品量较大时，可适当延长55°C孵育时间，最长不超过2小时。
- 4、反应结束后，裂解物直接作为模板进行PCR，或于2-8°C短期保存，于-20°C长期保存。

B: PCR

推荐PCR体系与条件 (以20 μl反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Lysate	0.5- 4 μl	-
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
2×TransDirect® Mouse Genotyping SuperMix (+dye)	10 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 μl	-



PCR

94℃	5-10 min	} 35-40 cycles
94℃	30 sec	
50-60℃	45 sec	
65℃	0.5-1 kb/min	
65℃	5-10 min	

* 多重PCR时建议按照最长片段设置延伸时间 (延伸速度0.5 kb/min)。

注意事项

- 样品用量不宜过多，以免影响扩增结果。
- 裂解物2-8℃可保存三个月，-20℃可保存六个月左右。
- 短期内 (1个月)多次使用试剂盒，可将AD1暂存于2-8℃以避免反复冻融。
- 多重PCR产物长度相近时，建议电泳检测时使用高浓度的琼脂糖凝胶。
- 由于裂解物杂质较多，容易出现非特异性扩增，建议PCR前先进行模板梯度扩增，选取合适的模板量，通常1 μl 或2 μl 能得到较好的结果。
- 退火温度、模板量、引物配比等条件合适仍然不能得到较好的多重PCR结果时，建议在PCR体系中添加终浓度 0.5-2×的GC Enhancer。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

