



快速鼠尾鉴别试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100123

产品介绍

本试剂盒配备了整套的 DNA 粗提取及 PCR 扩增体系，可直接快速地对小鼠组织（如鼠尾、鼠耳、鼠趾、肌肉等）样本进行 PCR 扩增，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，操作更加简单快速。试剂盒中配有 2×鼠尾直扩 PCR 预混液（含染料），包含特殊修饰的热启动 DNA 聚合酶、dNTPs 以及优化的缓冲体系。具有极高的扩增效率和抑制物耐受度，使用时只需加入模板和引物，并补水至 1×即可进行 PCR 反应，减少了开盖、移液等操作，显著降低样品交叉污染的风险，并且提高了检测通量和结果的可重复性。体系中预混有电泳缓冲液和染料，可在反应结束后直接进行电泳。本试剂盒适用于 10 kb 以内目的片段的扩增以及 4 对引物以内的多重 PCR 反应，可用于基因型快速鉴定、小鼠基因分型等。

产品目录

产品名称	规格
快速鼠尾鉴别试剂盒	100 rxns
	500 rxns

产品组成

组分	100 rxns	500 rxns
组织裂解液	20 mL	5×20 mL
蛋白酶 K	400 μL	5×400 μL
2×鼠尾直扩 PCR 预混液（含染料）	1 mL	5×1 mL

注：2×鼠尾直扩 PCR 预混液（含染料）组分中已包含 dNTPs、Mg²⁺、DNA 聚合酶、染料等。

产品用途

用于小鼠基因分型、小鼠转基因检测、小鼠基因敲除分析。

使用方法

1. 基因组 DNA 的释放

1.1 组织裂解液配制

根据需要裂解的小鼠样品数量配制裂解液，单个样品所需试剂比例如下：

组分	体积
组织裂解液	200 μL
蛋白酶 K	4 μL

注：裂解液应现用现配，且各组分添加完成后应涡旋振荡，充分混匀后再使用。

1.2 小鼠样品准备与裂解

样本类型	小鼠尾尖	小鼠耳朵	小鼠脚趾
推荐用量	1 ~ 3 mm	2 ~ 5 mm ²	1 ~ 2 个

将样品和新鲜配制的裂解液置于 55 °C 水浴中孵育 30 min（对于 5kb 以内的目标片段，30 min 孵育已足以释放足量的 DNA 模板，大于 5kb 的目标片段，请适当延长孵育时间）。为保证 DNA 充分释放，请务必将组织全部浸没至裂解液中。孵育结束后组织块可能并未完全消化，属正常情况，不影响使用。

1.3 小鼠组织裂解产物预处理



孵育结束后，将样品置于 95 °C或沸水浴中加热 5 min 灭活蛋白酶 K。然后将样品 12,000 rpm 离心 5 min，可以立即取上清进行 PCR 反应；或将上清转移至另一个灭菌 EP 管中，并置于-25 ~ -15 °C保存备用，保存时间为 2 周。

2. PCR 扩增体系配制

2×鼠尾直扩 PCR 预混液（含染料）完全解冻后上下颠倒混匀，于冰上配制如下反应体系：

组分	20 μL 体积	50 μL 体积
2×鼠尾直扩 PCR 预混液（含染料）	10 μL	25 μL
上游引物（10 μM）	0.5 μL	1.25 μL
下游引物（10 μM）	0.5 μL	1.25 μL
裂解产物	0.5 ~ 1 μL	1 ~ 2.5 μL
ddH ₂ O	Up to 20 μL	Up to 50 μL

注:1.各组分使用前应充分混匀,配制好 PCR 反应体系,置于涡旋仪上涡旋混匀,然后瞬时离心将反应液集于管底;2.PCR 扩增体系中引物终浓度为 0.2 ~ 0.4 μM 可以得到较好结果。反应性能较差时,可在 0.1 ~ 0.5 μM 范围内调整引物终浓度;3.裂解产物加入量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。

3. PCR 反应程序设定

Stage	程序	温度	时间	循环数
Stage 1	预变性	95 °C	5 min	1 cycle
Stage 2	变性	95 °C	15 sec	30 ~ 35 cycles
	退火	55 ~ 72 °C	20 sec	
	延伸	72 °C	15 sec/kb	
Stage 3	彻底延伸	72 °C	5 min	1 cycle

注：退火温度需要根据引物 T_m 值进行调整，一般设置为低于引物 T_m 值 2~5 °C即可。

4. PCR 产物电泳

PCR 扩增反应结束后直接取 3 ~ 5 μL 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。本产品中已经预混有电泳缓冲液和染料，因此扩增产物无需再添加 DNA 上样缓冲液。

■ 储存和运输条件

2×鼠尾直扩 PCR 预混液（含染料）于-25 ~ -15 °C保存，其余组分 2 ~ 8 °C保存。有效期 12 个月，干冰运输。

■ 常见问题及解决方案

常见问题	可能原因	解决方案
扩增产量低或者无法扩增	PCR 反应中加入的裂解液过量；或裂解液中混入了 PCR 抑制物。	减少裂解液用量；或将裂解产物稀释 10 倍后再进行 PCR 扩增；或增大 PCR 反应体系。
	模板加入量不适合。	裂解产物用量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。
	PCR 循环数不够。	增加 PCR 循环数以获得更好的扩增效果。
	循环反应退火温度设置太高。	降低退火温度（每次降低 3 °C）。
	PCR 引物错配严重。	重新设计引物。
非特异性扩增	PCR 退火温度太低；循环数太多；	升高 PCR 退火温度；减少 PCR 循环数；



或引物浓度/模板浓度太高。	降低引物浓度或模板浓度。
未在冰上配制 PCR 反应体系； 或配制完成后放置时间太久。	PCR 反应体系的配制在低温下进行； 配制完成后尽快进行 PCR 扩增反应。
PCR 引物错配。	重新设计 PCR 引物。

