

YALEPIC® 快速小鼠直扩 PCR 鉴定试剂盒 YALEPIC® Fast Mouse Genotyping Kit

产品货号

YEM41007

保存及运输条件

2 × YALEPIC® Mouse Direct PCR MasterMix (Dye) 需 -20°C 避光保存, ≤ 0°C 运输; 其余组分 2~8°C 保存, 长期 -20°C 保存, 避免反复冻融。

产品概述

YALEPIC® Fast Mouse Genotyping Kit 采用特殊修饰的 DNA Polymerase、高度优化的粗样本裂解液及 PCR 缓冲体系, 可直接快速地对小鼠组织 (如鼠尾、鼠耳、鼠趾等) 样本进行 PCR 扩增, 扩增产物为平末端。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, 极大缩短了实验耗时。本试剂盒可适用于 15 kb 以内片段的多重 PCR 反应, 反应时只需加入引物和模板即可进行扩增, 减少了开盖、移液等操作, 显著降低样品交叉污染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, 使用方便快捷。可用于基因型快速鉴定 (Rapid Genotyping)、小鼠基因分型等检测。

适用范围

小鼠基因分型、小鼠转基因检测、小鼠基因敲除分析等。

自备试剂及仪器

引物; 模板; Nuclease-free 离心管; PCR 仪; 水浴锅/恒温金属浴; 涡旋振荡仪器。

产品组分

组分	规格
YLS Lysis Buffer	15 ml
YDS Buffer	15 ml
2 × YALEPIC® Mouse Direct PCR MasterMix (Dye)	2 × 1.25 ml
Nuclease-free ddH ₂ O	5 ml



实验流程

● 样本 DNA 预处理

1. 推荐使用组织量：1 ~ 2 mm² 小鼠尾尖；1 ~ 2 mm² 小鼠耳朵；1 ~ 2 个小鼠脚趾。
2. 将适量样本加入到 1.5 ml 离心管（自备）中，加入 50 µl **YLS Lysis Buffer**，涡旋振荡 20 s，95°C 静置 5 min。
3. 样本充分裂解后，放置室温冷却 30 ~ 40 s，加入 50 µl 的 **YDS Buffer**，涡旋振荡 30 s。
4. 处理后的样本可立即使用，也可取上清置于 4°C 短暂保存，或 -20°C 长期保存。

● PCR 扩增

1. 使用试剂前确保彻底融化并混匀，加入反应体系的其他组分应充分混匀；
2. 计算所加各组分的体积（参考下面表格），并小心吸取准确体积到 PCR 反应管内；
3. 盖好 PCR 管盖，瞬时离心。

组分	20µl 体系
2 × YALEPIC [®] Mouse Direct PCR MasterMix (Dye)	10 µl
10 µM Forward Primer	0.5 µl
10 µM Reverse Primer	0.5 µl
Template	0.8~1 µl
Nuclease-free ddH ₂ O	Up to 20µl

注：

- 1) 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。
- 2) 裂解产物加入量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。
- 3) 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。

● PCR 反应程序推荐

程序	温度	时间	循环
预变性	98°C	3 min	1 cycle
变性	98°C	10 sec	35 cycles
退火	55 ~ 65°C	10 sec	
延伸	72°C	10-30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1 cycle

注：

- 1) 循环反应中的退火温度需要根据引物的 T_m 值进行调整，一般设置成高于引物 T_m 值 2 ~ 3°C 即可；对于难扩增的片段，可调节退火温度（56-68°C之间梯度调节寻找最适退火温度），和延长延伸时间来实现高效扩增。
- 2) 根据扩增片段长度设置延伸时间，对于保真性要求较高的实验，建议适当降低延伸速度。

本品仅供研究使用，请勿用于临床诊断