

BG Sciences Direct Mouse Genotyping Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号：SG001

保存：

2×PCR Master Mix (With Dye) -20°C保存，其他组分常温保存。有效期两年。

产品说明：

本试剂盒专为小鼠快速基因型鉴定而研制，能够迅速从小鼠尾巴、耳朵或脚趾等（新鲜或冻存）组织中释放足量的基因组 DNA，消化时间仅需 10 分钟，无需抽提与纯化，可直接将消化产物作为模板进行 PCR 扩增。

特点：

直接以裂解物为模板进行 PCR，操作快速简便，扩增效率高，适合高通量鉴定。

试剂盒组成

Component	SG001-01 (100rxns)	SG001-02 (500rxns)
SG1 Buffer	10ml	50ml
SG2 Buffer	1 ml	5 ml
2×PCR Master Mix (With Dye)	1 ml	5 ml

操作步骤

A：模板制备

1. 剪取小鼠组织置于干净的 EP 管，取样量如下：

鼠耳：打直径 3mm 的圆孔或者剪下近似大小的耳朵

鼠趾：约 2mm 长左右的脚趾（不含指甲的长度）

鼠尾：约 2mm 的尾尖

2. 向每个含有样本的 EP 管中加入 100μLSG1 Buffer，95°C水浴/金属浴中消化 10min。组织消化时，务必将组织完全浸没于消化液中。消化完成后，组织外观上仍然完整，但足量的基因组 DNA 已经释放，不影响后续的 PCR 实验。

3. 消化后冷却至室温（若管壁上有溶液残留，可快速离心一下），然后向每个 EP 管中加入 8.6 μL SG2 Buffer，轻弹 EP 管 3-4 次混匀，8000g 离心 5min，取上清作为 PCR 的模板。消化后的上清可-20°C保存 3 个月以上。

B: PCR 扩增（推荐 PCR 体系及条件如下）

Component	volume
ddH ₂ O	8μL
Forward primer(10μM)	0.5μL
Reverse primer(10μM)	0.5μL
Template DNA	1μL
2 x PCR Master Mix	10μL
Total volume	20μL

Step	Temp.	Time	Cycle
1	95°C	5min	
2	95°C	30sec	
3	55-65°C	30sec	
4	72°C	30sec	2-4, 35
5	72°C	7min	
6	16°C	--	

C: 琼脂糖凝胶电泳

试剂 2xPCR Master Mix 中含有溴酚蓝染料，PCR 产物可直接点样进行琼脂糖凝胶电泳。

鉴定实例



Marker-1500bp\1000bp\900bp\800bp\700bp\600bp\
 500bp\400bp\300bp\200bp\100bp
 样品：某基因CKO杂合子（flox/+）互配子代鼠尾
 预期条带大小：WT: 241 bp; MT: 313 bp

基因型	小鼠编号
阴性鼠（WT）	4, 5, 6, 7
杂合子（flox/+）	1, 3, 8, 11, 13, 15
纯合子（flox/flox）	2, 9, 10, 12, 14, 16

常见问题及对策

常见问题	可能原因	对策
样本组与阳性对照组均无扩增条带	PCR 反应条件设置不当	优化 PCR 反应条件
	PCR 引物质量问题	重新设计 PCR 引物
	2×PCR Master Mix 运输或储存不当失活	更换新的试剂
样本组无扩增条带而阳性对照组正常	不当储存或长期储存引起试剂活性丧失	更换新的试剂
	组织消化不够充分	延长 95°C 消化时间至 20 min
存在非特异性扩增条带	PCR 退火温度太低，循环数、引物浓度或模板浓度太高	增加 PCR 退火温度，降低 PCR 循环数、引物浓度或模板浓度
	PCR 引物错配	重新设计 PCR 引物
	配制 PCR 反应体系时温度太高或配制完后放置时间太久	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