

M5 HiPer Direct Tissue DNA qPCR kit

组织 DNA 直接 qPCR 检测试剂盒使用说明书

Product	Unit	Cat.#
M5 HiPer Direct Tissue DNA qPCR kit	50Tx50ul	MF722-01

【产品组成及保存温度】

	体积	储存温度
Buffer ML	5.5 ml	RT
Protease Plus	220 μ l	RT
2 x M-PCR Mix	700 μ l	-20°C
RNase Free ddH2O	1 ml	RT
塑料研磨杵	10 个	RT

【产品简介】：

本试剂盒采用了具有专利配方的缓冲体系，包含了快速制备小鼠组织基因组 DNA 和后续 PCR 扩增的所有试剂，适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法提取基因组 DNA 并用于后续的 PCR 扩增和检测。整个提取过程不包含匀浆破碎，高温孵育，去蛋白及其它杂质的过程，无需有机溶剂抽提，无需无水乙醇沉淀，简便、快捷，而且质量稳定可靠。

本试剂盒提供的 2 x M-PCR Mix 是一种扩增兼容性很强的 PCR 试剂，无需彻底去除蛋白等杂质，便能进行高效特异扩增，该试剂包含了抗逆热启动 DNA 聚合酶、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂及稳定剂，具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点，尤其适用于临床分子诊断产品的开发。

【产品特性】：

简单快速：适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法基因鉴定。

高特异性：2 x M-PCR Mix 中所用的聚合酶为抗体修饰的热启动酶，具有高效的模板和引物亲和性及扩增特异性，特别适合基因分型和转基因鉴定

【注意事项】

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. Buffer ML 应放置于室温保存，低温时如有沉淀析出，可在 37°C 水浴中重新溶解沉淀，并摇匀溶液后使用。
3. 本产品提供的 2 x M-PCR Mix 为 2x 母液，使用时需加入模板和引物，并加入 RNase Free ddH2O 补足体积，使其浓度为 1 x 即可进行反应。

【操作步骤】

1. 第一次使用本试剂盒时, 请仔细查看 Buffer ML 中是否有结晶析出, 如有结晶请将该 Buffer 置于 37°C 水浴中重新溶解后摇匀使用。

2. 按照下表配方配制组织消化液:

组成成分	体积
Buffer ML	96 μ l
Protease Plus	4 μ l
Total 100 μ l	

注意: 消化液请尽量现用现配, 以保证 Protease Plus 的活性。

3. 取少量小鼠组织样品 (约 5-10 mg) 于 1.5 ml 的离心管中, 加入 100 μ l 组织消化液, 确保组织样品完全浸润于组织消化液中, 65°C 处理 30 min。期间每隔 10 min 左右轻弹管底, 提高消化效率。

4. 消化结束后, 瞬时离心, 并于 95-100°C 下处理 5 min。

5. 12,000 rpm 离心 5 分钟, 取上清作为 PCR 模板。

6. PCR 扩增反应。取 1 μ l 上清用于 PCR 反应, 参考 PCR 体系及扩增程序如下:

【PCR 反应体系】:

PCR 反应体系的建立, 25 μ l 体系如下:

组成成分	体积
2 \times M-PCR Mix	12.5 μ l
Primer F (10 μ M)	0.5 μ l
Primer R (10 μ M)	0.5 μ l
模板 DNA(消化产物)	1 μ l
RNase Free ddH ₂ O	补足 25 μ l

试剂全部加好后, 混匀后瞬时离心, 将所有试剂收集到管底。

【PCR 反应条件】:

温度	体积	
95°C	3 min	1 cycle
94°C	30 sec	35 cycles
55°C [§]	30 sec	
72°C	1 kb/min	
72°C	5 min	1 cycle

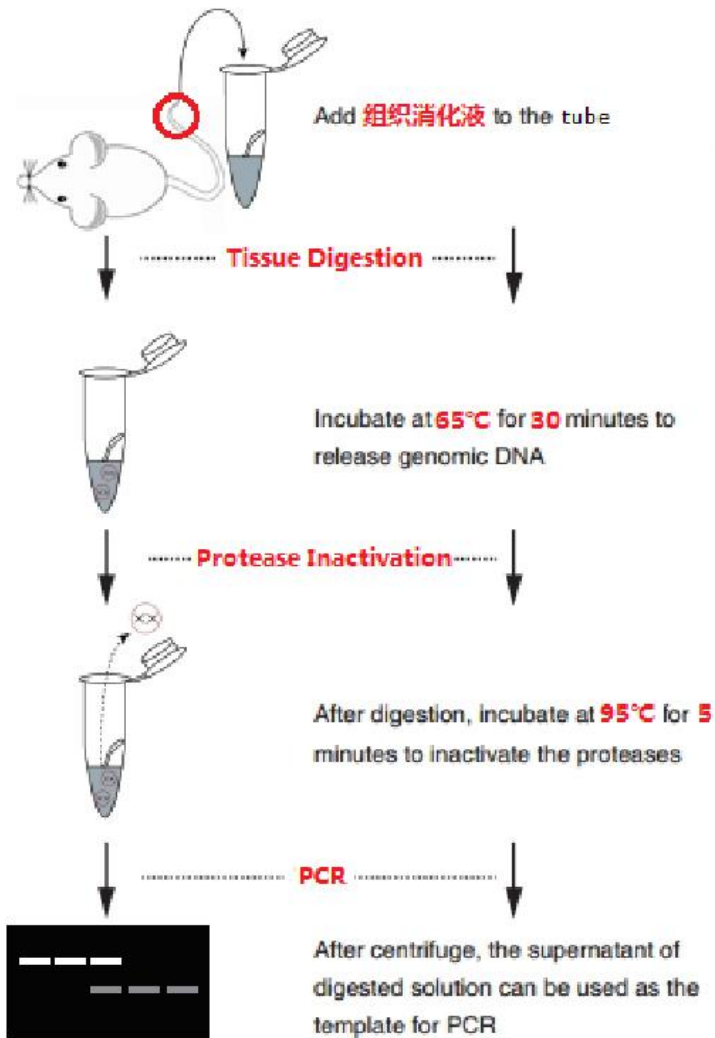
[§]通常引物退火温度比引物的解链温度 (T_m) 低 5°C, 具体退火温度设定可根据引物情况进行调整。

【PCR 结果检测】:

反应结束后取 5-10 μl 反应产物，进行琼脂糖凝胶电泳检测。

注意：举例仅供参考，实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况设定最佳反应条件。操作中如发现管壁或管盖上有液体可以瞬时离心将其甩至管底。

【实验流程简图】：



Please note: All products are "FOR RESEARCH USE ONLY AND ARE NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE"