

TransDirect[®] Animal Tissue PCR Kit

哺乳动物组织直接PCR试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AD201

版本号: Version 2.0

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缓冲液裂解组织 (新鲜、冻存组织), 所得裂解物无需纯化即可作为模板, 用抑制的2×TransDirect[®] PCR SuperMix II (+dye)进行扩增。扩增产物可直接上样电泳。AD3 Buffer建议分装使用。

特点

- 直接以裂解物为模板进行PCR, 适合样品高通量筛选。
- 适用于培养哺乳动物细胞、血液、唾液、毛发、动物组织 (哺乳动物、海洋动物、昆虫)等。
- 扩增片段≤3 kb。

试剂盒组成

Component	AD201-01	AD201-02
AD1 Buffer	4 ml	20 ml
AD2 Buffer	1 ml	5 ml
AD3 Buffer	4 ml	2×10 ml
2×TransDirect [®] PCR SuperMix II (+dye)	1 ml	5×1 ml
Nuclease-free Water	5 ml	25 ml

样品要求

种类	样品量
动物细胞	≤10 ⁶ 细胞
毛发	≤10 mg
动物组织	≤10 mg
鼠尾	≤0.5 cm
鼠耳	≤0.5 cm ²
唾液	≤10 μl
血液	≤10 μl

操作步骤

提前准备95°C水浴, 金属浴或PCR仪。

A: 样品裂解

1、在40 μl的AD1 Buffer中加入10 μl的AD2 Buffer, 枪头吹吸混匀。(如提取的样品很多, 可提前将AD1 Buffer 与AD2 Buffer以4:1的比例预混, 两小时内使用。)

2、不同样品, 处理方法如下

a、动物细胞

将收集到的细胞彻底除去培养液, 加入AD1与AD2的混合液, 枪头吹吸混匀。

b、动物组织

用干净无菌的剪刀或刀片将组织切碎后, 加入AD1与AD2的混合液, 枪头吹吸混匀。



c、唾液

将唾液直接加入AD1与AD2的混合液，枪头吹吸混匀。

d、毛发

将所取毛发尽量剪碎后，加入AD1与AD2的混合液，枪头吹吸混匀。

e、血液

将血液直接加入AD1与AD2的混合液，枪头吹吸混匀。

3、55℃孵育10分钟，之后95℃孵育3分钟。

4、加入40 μl AD3 Buffer，混匀后直接作为模板进行PCR或置于2-8℃或-20℃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
Unpurified Lysate	Variable (≤4 μl)	as required
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
2×TransDirect® PCR SuperMix II (+dye)	10 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 μl	-

PCR

94℃	5-10 min	} 35-40 cycles
94℃	30 sec	
X℃	30 sec	
72℃	1-2 kb/min	
72℃	5-10 min	

注：退火温度X为引物理论Tm值±2-5℃

注意事项

- 样品避免反复冻融。
- 使用时试剂彻底化冻、混匀。
- 引物浓度通常为0.2 μM，可根据实验结果在0.1-0.5 μM范围内进行调整。
- 模板用量一般不超过反应体系的10%为最佳。以20 μl体系为例，最佳模板加入量为1-2 μl，最大不能超过4 μl，过多的用量会抑制PCR反应。
- 如扩增条带较弱，可适当增加模板用量或PCR循环数 (不宜超过40个循环)；如非特异扩增较多，可调整退火温度或适当增减模板用量。
- 裂解物2-8℃可保存三个月，-20℃保存六个月。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2-202512

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

