



ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本 2021-10

Animal Direct PCR Kit

快速动物组织PCR直扩试剂盒

Catalog # ZT502

试剂盒组成:

组成	保存条件	ZT502-1 40次	ZT502-2 200次
2×Animal Direct Master Mix	-20℃	1ml	1ml×5
Animal Direct Lysis Buffer	-20℃	1ml×2	10ml
Proteinase K (10mg/ml)	-20℃	100μl	500μl

产品介绍:

本产品适于动物组织直接扩增。使用定向改造的直扩DNA聚合酶，对动物组织中PCR抑制物有极强的耐受能力，适用于4kb以下的DNA片段扩增。本产品使用独特的裂解缓冲液裂解动物组织（新鲜或冻存），所得裂解物无需纯化即可作为模板。

质量控制:

SDS-PAGE检测纯度大于99%；经检测无外源核酸酶活性；PCR方法检测无宿主残余DNA；能有效地扩增动物基因组中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

样品处理:

推荐使用体积约2mm²的样品

- 1). 将样品研磨破碎后加入50μl Plant Direct Lysis Buffer 和2.5μl Proteinase K (10mg/ml)
(若所取样品体积较大或较小，可按比例增大或缩小Plant Direct Lysis Buffer 使用量)
- 2). 56℃孵育20-40min (鼠尾等较难裂解的组织，可延长56℃孵育时间，但不宜超过2h)
- 3). 95℃-100℃处理3-5min (若样品较难裂解，可延长95℃-100℃处理时间，但不宜超过20min)
- 4). 12000rpm离心1-2min，取1-3μl上清加入PCR反应体系作为模板。(不同动物组织抑制物释放量不同，请摸索您样品的最佳模板加入量)



注意:

1. 不是动物组织越大越好, 越大的动物组织释放抑制PCR反应的成分越多, 通常 2mm^2 的样品就可以了。
2. 对于部分容易裂解的样品 (且片段容易扩增), 可以不进行研磨破碎。(以实验效果为准, 不推荐)
3. 裂解处理后的粗品仅可 4°C 短期储存 (一周), 若需要长时间储存, 可将上清液转移到新的管中置于 -20°C 储存。

反应体系:

20 μl 反应体系如下 (可根据比例放大或缩小反应体系):

动物组织模板	1-3 μl
Primer 1 (10 μM)	0.5 μl
Primer 2 (10 μM)	0.5 μl
2 $\times$ Animal Direct Master Mix	10 μl
ddH ₂ O	补足至20 μl

反应程序: (建议退火温度设置为 $T=T_m-2$)

94 $^{\circ}\text{C}$	5 min	
94 $^{\circ}\text{C}$	15 sec	} 32-40 cycles
50 $^{\circ}\text{C}$ -72 $^{\circ}\text{C}$	15 sec	
72 $^{\circ}\text{C}$	30sec/kb	
72 $^{\circ}\text{C}$	5 min	

注意事项:

1. 建议以纯化的基因组DNA做阳性对照, 确保引物及操作等无误。
2. 对于复杂样品或扩增产率较低的样品可适当提高扩增循环数。
3. 动物组织裂解粗品中存在抑制PCR反应的成分, 加入过多的模板不利于扩增反应, 不同动物组织抑制物释放量不同, 请摸索您样品的最佳模板加入量。