



版本 2023-09

## 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°C	1ml	1ml×5
Animal Direct Lysis Buffer	-20°C	2ml	10ml
Proteinase K (10mg/ml)	-20°C	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2mm<sup>3</sup>的样品

- 1). 将样品研磨破碎后加入50μl Animal 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Animal Direct Lysis Buffer 使用量)
- 2). 56°C孵育20-40min (鼠尾等较难裂解的组织，可延长56°C孵育时间，但不宜超过2h)
- 3). 95°C-100°C处理3-5min (若样品较难裂解，可延长95°C-100°C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 $2\text{mm}^2$ 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 $4^\circ\text{C}$ 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 $-20^\circ\text{C}$ 储存。

### **反应体系:**

20 $\mu\text{l}$ 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 $\mu\text{l}$
Primer 1 (10 $\mu\text{M}$ )	0.5 $\mu\text{l}$
Primer 2 (10 $\mu\text{M}$ )	0.5 $\mu\text{l}$
2 $\times$ Animal Direct Master Mix	10 $\mu\text{l}$
ddH <sub>2</sub> O	补足至20 $\mu\text{l}$

### **反应程序:** (建议退火温度设置为T=Tm-2)

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

} 32-40 cycles

### **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。