Powerpol HS 2X PCR Mix for Mouse Genotyping

产品目录号：RM20397

产品组分

组分名称	组分编号	15 mL
Powerpol HS 2X PCR Mix for Mouse Genotyping	RM20397	1.25 mL × 12

产品说明

Powerpol HS 2X PCR Mix for Mouse Genotyping 是配合 Mouse Tissue Direct PCR Kit（ABclonal RK20736）共同使用的。

Mouse Tissue Direct PCR Kit（ABclonal RK20736）是适用于小鼠基因型快速鉴定（Genotyping）的试剂盒，包含整套的组织裂解液和 PCR 扩增体系。本试剂盒可用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中快速释放基因组 DNA，产物可直接进行 PCR 扩增，极大缩短了实验耗时。使用时，将组织浸泡在裂解液中，55℃孵育 15 min 后，95℃加热 5 min 灭活蛋白酶 K。裂解产物经离心后可直接用做 PCR 扩增模板，经反复测试广泛适用于 4 kb 以内目标片段扩增，并适用于 4 对引物以内的多重 PCR 反应，超过 4 Kb 以上的片段需要进行优化条件。

Powerpol HS 2X PCR Mix for Mouse Genotyping 包含高性能的 DNA Polymerase，dNTP 以及优化的缓冲体系。PCR 反应时只需加入引物和模板即可进行扩增，减少操作，显著降低了样品交叉污染并且提高了检测通量和结果的重现性。Powerpol HS 2X PCR Mix for Mouse Genotyping 经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。体系中包含了 DNA Loading 染料，可在反应结束后直接进行电泳，使用方便快捷。

保存温度

-20℃

操作说明

标准操作

1. 取干净的 1.5 mL EP 管，向 EP 管中加入鼠尾（鼠尾、鼠趾推荐 1-2 mm 或 3-5 mg，鼠耳推荐 1-5 mm^2 或 3-5 mg）。
2. 向 EP 管中加入 200 µL Tissue Lysis Buffer II，完全淹没组织。
3. 推荐裂解反应如下：

步骤	温度	时间
裂解	55℃	15 min
灭活	95℃	5 min

注：组织裂解时，务必将组织完全浸没于组织裂解液中。裂解完成后，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。

4. 裂解后进行 12,000 rpm，离心 2 min，取上清进行 PCR 反应。上清可在-20℃保存至少三个月。

推荐的反应体系如下：

组份	20 µL	终浓度
Powerpol HS 2X PCR Mix for Mouse Genotyping*	10 µL	1X
上游引物(10 µM)	0.5 µL	0.25 µM
下游引物(10 µM)	0.5 µL	0.25 µM
裂解产物	2 µL	/
Nuclease-free Water	7 µL	N/A

*，注：试剂 Powerpol HS 2X PCR Mix for Mouse Genotyping 中含有 DNA Loading 染料，PCR 产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，不用另外添加 Loading buffer。

E-mail:cn.market@abclonal.com
TEL:400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

推荐的 PCR 反应程序如下：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98℃	45 s	1
变性	98℃	10 s	35
退火	55-65℃	20 s	
延伸	72℃	10 s	
终延伸	72℃	5 min	1
Hold	4-12℃	-	1

常见问题及对策

1. 扩增产量低或者无法扩增：

a. 裂解不充分，建议 55℃裂解时间延长至 3 h；

b. 抑制剂作用：可尝试稀释样本 2 倍-5 倍后进行扩增；

c. 蛋白酶 K 没有被充分灭活：可以延长灭活时间为 30 min；

d. 扩增片段较长：扩增速度设置为 1 kb/1 min，同时延长终延伸时间至 10 min 或采取两步法扩增长片段。

e. PCR 引物问题：设置阳性对照反应。

2. 存在非特异性扩增条带：

a. 配制 PCR 体系时环境温度过高：冰上配制反应体系，配完尽快开始 PCR 反应；

b. PCR 体系中引物浓度或 DNA 模板浓度过高：适当降低引物和模板用量；

c. 退火温度过低或循环数太高：提高退火温度，或降低循环数，可以进行梯度优化实验；

d. PCR 引物错配：重新设计 PCR 引物。