



## GeneCopoeia 小鼠基因分型试剂盒

**Cat. No. MG100**

**Cat. No. MG500**

### 用户手册

GeneCopoeia, Inc.  
9620 Medical Center Drive, #101  
Rockville, MD 20850  
USA

301-762-0888

[inquiry@genecopoeia.com](mailto:inquiry@genecopoeia.com)

[www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com)

© 2021 GeneCopoeia, Inc.

# 用户手册

## GeneCopoeia 小鼠基因分型试剂盒

- I.技术简介.....2
- II.产品组分.....2
- III.产品应用.....2
- IV.操作流程.....3
  - 1. 组织裂解.....3
  - 2. PCR扩增.....3
- V.常见问题与解决.....4
- VI.附 录 .....5
- VII.有限使用许可及质保声明.....6

I. 技术简介

本试剂盒提供一整套试剂用于小鼠基因型快速鉴定。试剂盒中的组织裂解液能够快速裂解小鼠尾巴，耳朵或脚趾等组织，释放出的基因组DNA无需提纯即可用于PCR扩增。PCR产物用电泳观察便可对相应基因型进行快速鉴定。试剂盒的 PCR 反应体系适用于扩增长度 <1.5kb 的靶序列，产生的平端及黏端的PCR产物混合物可连接T载体或平端载体，方便进行测序确证。实验流程快捷简便，结果准确度高，极大的节约了宝贵的实验时间和成本。

II. 产品组分

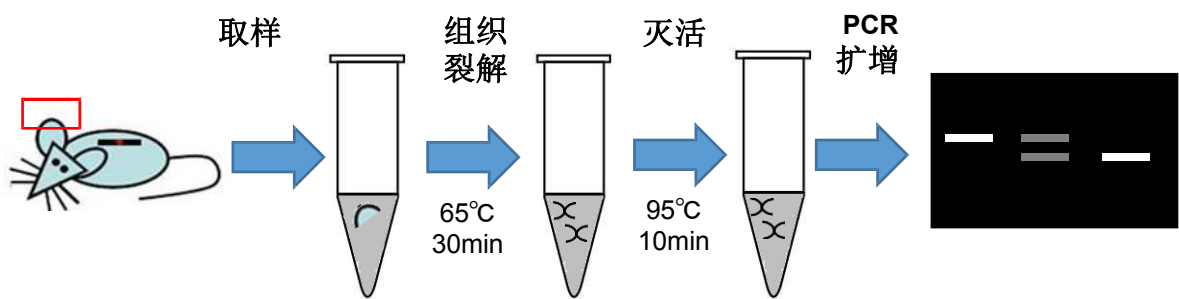
GeneCopoeia 小鼠基因分型试剂盒有两种规格：

| 内容                  | 总量<br>100 个反应<br>500 个反应   | 运输条件 | 储存条件                |
|---------------------|----------------------------|------|---------------------|
| Tissue Lysis Buffer | 20mL/瓶×1<br>20mL/瓶×5       | 冰袋   | 室温下能稳定储存至少 12 个月    |
| Proteinase          | 200μL /管×1<br>200μL /管×5   | 冰袋   | -20℃ 下能稳定储存至少 12 个月 |
| 2×SuperHero PCR Mix | 1300μL /管×1<br>1300μL /管×5 | 冰袋   | -20℃ 下能稳定储存至少 12 个月 |
| ddH <sub>2</sub> O  | 1 mL /管×1<br>1 mL /管×5     | 冰袋   | -20℃ 下能稳定储存至少 12 个月 |

III. 产品应用

- 小鼠基因分型
- 小鼠转基因检测
- 小鼠基因敲除检测

IV. 操作流程



1. 组织裂解

| 组织   | 建议组织使用量 |
|------|---------|
| 小鼠尾尖 | 5mm~1cm |
| 小鼠耳朵 | 半只      |
| 小鼠脚趾 | 半只      |

- a. 按照待裂解样品的数量配制1×组织裂解液，配制方法如下表。其中 Tissue Lysis Buffer 的成分有可能在低温下产生白色絮状沉淀，强烈建议实验前先确保该试剂已升至室温（25℃），沉淀完全溶解。

| 试剂                  | 体积（每样品） |
|---------------------|---------|
| Tissue Lysis Buffer | 200 μL  |
| Proteinase          | 2 μL    |

- b. 向每个含有样品的EP管中加入新鲜组织裂解液，涡旋混匀后，65℃水浴裂解 30min。组织裂解时，务必将组织完全浸没于裂解液中。水浴结束后，组织块外观可能未能裂解完全，但足量的基因组DNA已经释放进入裂解液，不影响后续的PCR实验。
- c. 裂解完成后，将样品置于95℃或沸水浴中加热10min灭活Poteinase。
- d. 将处理后的样品12000rpm离心5min，取上清进行PCR实验，未使用的澄清透明上清可在-20℃保存一个月。

2. PCR 扩增

- a. 反应体系：试剂盒的组分解冻后，上下颠倒混匀，在冰浴中配置以下25μL反应体系

|                     |         |
|---------------------|---------|
| 裂解产物                | 1 μL    |
| 引物 1（5μM）           | 1 μL    |
| 引物 2（5μM）           | 1 μL    |
| 2×SuperHero PCR Mix | 12.5 μL |
| ddH2O               | 9.5 μL  |
| 总体积                 | 25 μL   |

## b. PCR程序

| 温度  | 时间    | 循环数 |
|-----|-------|-----|
| 94℃ | 5 min | 1   |
| 94℃ | 30 s  | 35  |
| 55℃ | 30 s  |     |
| 72℃ | 2 min |     |
| 72℃ | 7 min | 1   |

## c. 琼脂糖凝胶电泳

对PCR扩增产物进行琼脂糖电泳检测。

## V. 常见问题与解决

**Q1.** 样品和阳性对照均无扩增条带

**A:** 可能是PCR反应条件未设置好或者引物质量存在问题，请尝试优化PCR反应条件设置，并对引物进行检查或重新设计。

**Q2.** 阳性对照正常，样品无扩增条带或扩增产量低

**A1:** 样品未充分裂解，释放的基因组DNA量不够。可尝试延长65℃裂解时间至2h；

**A2:** Proteinase未完全灭活。可尝试适当延长95℃加热的时间；

**A3:** PCR反应循环数不够。尽管35个循环一般已经能够扩增足够的产物，但对于某些片段，需要更高的循环数才能观察到较明显的扩增条带；

**A4:** 扩增反应退火温度太高。可适当降低退火温度，建议使用梯度PCR仪进行优化；

**A5:** PCR引物不正确。请用提纯后的小鼠基因组DNA为模板作为阳性对照进行诊断。

**Q3.** 存在非特异性扩增产物

**A1:** 在室温下配制PCR反应体系或配制结束后放置时间过久。请在冰上进行反应体系的配制，配制完成后请尽快进行PCR扩增；

**A2:** PCR退火温度太低，或循环数，引物浓度以及模板浓度太高。请对退火温度进行优化，并适当降低循环数，引物浓度或组织裂解液添加量；

**A3:** PCR引物错配。请核对引物序列并重新设计引物。

**Q4.** 阴性对照也出现扩增条带

**A:** PCR反应体系引入了污染。请逐一检查组织裂解过程和PCR扩增过程的各个组分。

VI. 附 录

1. 小鼠基因分型检测中阳性及阴性对照组的实验步骤:

| 阳性对照组模板      | 阴性对照组模板 |
|--------------|---------|
| 提纯后的小鼠基因组DNA | ddH2O   |

a. 反应体系: 试剂盒的组分解冻后, 上下颠倒混匀, 在冰浴中配置以下25μL反应体系

|                     |         |
|---------------------|---------|
| 对照组模板               | 1 μL    |
| 引物1 (5μM)           | 1 μL    |
| 引物2 (5μM)           | 1 μL    |
| 2×SuperHero PCR Mix | 12.5 μL |
| ddH2O               | 9.5 μL  |
| 总体积                 | 25 μL   |

b. PCR程序

| 温度   | 时间    | 循环数 |
|------|-------|-----|
| 94°C | 5 min | 1   |
| 94°C | 30 s  | 35  |
| 55°C | 30 s  |     |
| 72°C | 2 min |     |
| 72°C | 7 min | 1   |

c. 琼脂糖凝胶电泳

对PCR扩增产物进行琼脂糖电泳检测。

## VII. 使用许可及质保声明

### 有限使用许可

Following terms and conditions apply to use of the GeneCopoeia Mouse Genotyping Kit. If the terms and conditions are not acceptable, the Product in its entirety must be returned to GeneCopoeia within 5 calendar days. A limited End-User license is granted to the purchaser of the Product. The Product shall be used by the purchaser for internal research purposes only. The Product is expressly not designed, intended, or warranted for use in humans or for therapeutic or diagnostic use. The Product must not be resold, repackaged or modified for resale, or used to manufacture commercial products or deliver information obtained in service without prior written consent from GeneCopoeia. Use of any part of the Product constitutes acceptance of the above terms.

### 有限质量保证

GeneCopoeia warrants that the Product meets the specifications described in the accompanying Product Datasheet. If it is proven to the satisfaction of GeneCopoeia that the Product fails to meet these specifications, GeneCopoeia will replace the Product. In the event a replacement cannot be provided, GeneCopoeia will provide the purchaser with a refund. This limited warranty shall not extend to anyone other than the original purchaser of the Product. Notice of nonconforming products must be made to GeneCopoeia within 30 days of receipt of the Product. GeneCopoeia's liability is expressly limited to replacement of Product or a refund limited to the actual purchase price. GeneCopoeia's liability does not extend to any damages arising from use or improper use of the Product, or losses associated with the use of additional materials or reagents. This limited warranty is the sole and exclusive warranty. GeneCopoeia does not provide any other warranties of any kind, expressed or implied, including the merchantability or fitness of the Product for a particular purpose.

GeneCopoeia is committed to providing our customers with high-quality products. If you should have any questions or concerns about any GeneCopoeia products, please contact us at 301-762-0888.

© 2021 GeneCopoeia, Inc.