

Version: AF 5.0 (2026.08.12修订)

Spark Mouse Tail Direct PCR Kit

目录号: AF1303

01/产品组分

序号	组分	AF1303 500 rxn(20 μ L/rxn)
1	2 $\times$ Spark Taq Plus Master Mix (with Dye)	1 mL $\times$ 5
2	1 $\times$ Mouse Tail Lysis Buffer	100 mL
3	Proteinase K	1 mL $\times$ 2

02/保存条件

1 $\times$ Mouse Tail Lysis Buffer和Proteinase K于4 $^{\circ}$ C保存, 其他组分于-20 $^{\circ}$ C保存。

03/产品概述

本试剂盒包含整套的DNA粗提取以及PCR扩增体系, 适用于小鼠基因型快速鉴定(Rapid Genotyping)。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, 无需匀浆、破碎、过夜消化、酚氯仿抽提、DNA沉淀或柱式纯化等操作, 极大缩短了实验时间。使用时, 将组织浸泡在添加了Proteinase K的裂解液中, 55 $^{\circ}$ C孵育20 min后, 95 $^{\circ}$ C加热5 min灭活Proteinase K, 裂解产物经离心后可直接用作PCR扩增模板。本试剂盒适用于5 kb以内目标片段的扩增及4对引物以内的多重PCR反应。

试剂盒中配有2 $\times$ Spark Taq Plus Master Mix (with Dye), 包含高性能的Spark Taq Plus DNA Polymerase, dNTP以及优化的缓冲体系。进行PCR扩增时只需加入引物和模板即可, 减少了开管、移液等操作, 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。独特的保护剂使得Spark Taq Plus Master Mix经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。体系中预混有染料, 可直接进行电泳。

04/适用范围

小鼠基因分型，小鼠转基因检测，小鼠基因敲除分析。

05/注意事项

- ◇ 用 70%的乙醇（自备）预先清洗组织分离过程中所使用的所有工具；
- ◇ Proteinase K 灭活步骤（95°C，5 min）必须进行，否则其残留活性会抑制后续 PCR 反应。

06/实验流程

DNA 提取：

推荐组织使用量：1-3 mm 小鼠尾尖；2-5 mm² 小鼠耳朵；1-2 个小鼠脚趾。

1. 根据需要裂解的样品数量，配制适量 1×裂解液，单个样品所需裂解液配制方法如下：

1×裂解液（单样品）	
Proteinase K	4 μL
1×Mouse Tail Lysis Buffer	200 μL

▲ 应使用新配制的 1×裂解液，各组分添加完成后涡旋振荡，充分混匀后再使用。

2. 取 200 μL 1×裂解液加入到所需裂解的组织中，涡旋振荡后在 55°C 水浴中孵育 20 min。孵育时间可根据实际情况进行调整，下表为不同长度的扩增片段在 55°C 下所推荐的孵育时间。

扩增片段长度	55°C 推荐孵育时间
≤2000 bp	5-20 min
≤5000 bp	30 min

▲ 对于常规大小的目标片段，孵育 10 min 足以释放足量的 DNA 模板。

▲ 为保证 DNA 释放效率，请务必将组织全部浸没至裂解液中。孵育结束后组织块可能并未消化完全，属正常情况，不影响使用。

3. 孵育完成后，将样品置于 95°C 或沸水浴中加热 5 min 灭活 Proteinase K。

4. 将裂解产物涡旋振荡充分混匀后，12,000 rpm 离心 5 min，取上清即可进行 PCR 反应。也可将上清转移至另一个灭菌 EP 管中，-20°C 至少可存放两个月。

PCR 扩增：

1. 操作在冰上进行，各组分解冻后请充分混匀后使用，用完后请及时放回 -20°C 保存。反应体系不同，可按此比例增加或减少产品用量。

Components	Volume
2×Spark Taq Plus Master Mix (with Dye)	10 μL
裂解产物	0.5-2 μL
Forward Primer (10 μM)	0.8 μL
Reverse Primer (10 μM)	0.8 μL
ddH ₂ O	up to 20 μL

- ▲ 各组分使用前应充分混匀，配制好 PCR 反应体系，置于涡旋仪上涡旋混匀，然后瞬时离心将反应液集于管底；
- ▲ PCR 扩增体系中引物终浓度为 0.2~0.4 μM 可以得到较好结果。反应性能较差时，可在 0.1~0.5 μM 范围内调整引物终浓度；
- ▲ 裂解产物加入量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。

2. PCR 反应条件设置（推荐）：

94°C:	5 min	} 35 cycles
94°C:	30 sec	
56-72°C:	30 sec	
72°C:	30 sec/kb	
72°C:	7 min	

- ▲ 退火温度需根据引物的 T_m 值进行调整，若有需要，可通过进行退火温度梯度 PCR 寻找引物与模板结合的最佳退火温度。

07/结果检测

反应结束后取 3-5 μL 反应产物，在适合浓度的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。扩增产物直接进行琼脂糖凝胶电泳检测，无需添加 DNA Loading Buffer。

08/相关产品

- AA1003 SPARKclassic 组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒（小量）
- AJ0101 Spark 2000 DNA Marker
- AJ0206 Spark 50×TAE Buffer
- AJ0210 Sparkred
- AC1709 RNase-Free and DNase-Free 纯水

09/常见问题及解决方案

常见问题	可能原因	解决方案
扩增产量低或者无法扩增	PCR 反应中加入的裂解液过量；或裂解液中混入了 PCR 抑制物。	减少裂解液用量；或将裂解产物稀释 10 倍后再进行 PCR 扩增；
	DNA 释放效率较差。	可尝试延长 55°C 孵育时间至 1 h
	PCR 循环数不够。	增加 PCR 循环数以获得更好的扩增效果。
	退火温度设置太高。	降低退火温度（每次降低 3°C）。
	PCR 引物错配严重。	重新设计引物。
非特异性扩增	PCR 退火温度太低；循环数太多；或引物浓度/模板浓度太高。	升高 PCR 退火温度；减少 PCR 循环数；降低引物浓度或模板浓度。
	未在冰上配制 PCR 反应体系；或配制完成后放置时间太久。	PCR 反应体系的配制在低温下进行；配制完成后尽快进行 PCR 扩增反应。
	PCR 引物错配。	重新设计 PCR 引物。

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

