

天
净
沙
系
列

CAT#:13-141

低温运输, -20℃保存

BINGENE

小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 试剂盒

Mouse Mitochondrion DNA PCR Kit

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>线粒体是真核生物产生能量的重要细胞器，它具有自身的基因组，线粒体 DNA 和 细胞核 DNA 共同决定真核生物的表现型，因此研究线粒体 DNA 具有重要的意义。本试剂盒基于荧光定量 PCR 原理开发，可用于定性分析小鼠线粒体 DNA，本产品就是为满足此需求而开发的、专门检测小鼠线粒体 DNA 的 PCR 试剂盒，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。 2. 产品经过精心优化，分析灵敏性能到达 100 拷贝/反应。 3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。 4. 特异性高，引物是根据小鼠线粒体 DNA 高度保守区设计，in silico 分析发现它只能检测小鼠线粒体 DNA，不会跟除此之外的其他生物的 DNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20μL 体系的常规 PCR 反应。 6. 本产品只能用于定性实验，不能用于定量实验。 7. 本产品只能用于科研。 																								
<p>规格及成分</p>	<p style="text-align: center;">本产品采用 5 孔盒包装</p> <table border="1" data-bbox="472 1093 1453 1480"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>编 号</th> <th>规 格</th> <th>包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2\timesPCR MasterMix</td> <td>990805</td> <td>0.5 mL</td> <td>0.5 mL 本色盖</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>210806</td> <td>1 mL</td> <td>1.5 mL 蓝盖管</td> </tr> <tr> <td>小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 引物干粉</td> <td>yw13-141</td> <td>50 次</td> <td>0.5mL 白盖管</td> </tr> <tr> <td>小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 阳性对照 (1\times10E4 拷贝/μL)</td> <td>pc60908-141</td> <td>250 μL</td> <td>0.5mL 黄盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-141sc</td> <td>1 份</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>注意：1、引物干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 110μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20$^{\circ}$C 保存。</p> <p>2、为避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供专一的 DNA 片段作为阳性对照。</p>	成 份	编 号	规 格	包装材料	2 \times PCR MasterMix	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色盖	超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管	小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 引物干粉	yw13-141	50 次	0.5mL 白盖管	小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)	pc60908-141	250 μ L	0.5mL 黄盖管	使用手册	13-141sc	1 份	1 份
成 份	编 号	规 格	包装材料																						
2 \times PCR MasterMix	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色盖																						
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管																						
小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 引物干粉	yw13-141	50 次	0.5mL 白盖管																						
小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)	pc60908-141	250 μ L	0.5mL 黄盖管																						
使用手册	13-141sc	1 份	1 份																						
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-20$^{\circ}$C 保存，保存期限为 12 个月。</p>																								
<p>自备试剂</p>	<p>样品 DNA</p>																								
<p>使用方法</p>	<p>一、样品 DNA 的制备</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 如果有 N 个样品，必须设置 N+2 个提取反应，多出的两个中一个是 PC (样品制备阳性对照)，一个是 NC (样品制备阴性对照)。可以用试剂盒提供 																								

的 PCR 阳性对照 (1×10^4 拷贝/ μL , 本试剂盒提供) $10\mu\text{L}$ 加上一定量的水作为制备的阳性对照 (加水后其总体积跟核酸制备试剂盒所要求的起始样品体积一样)。可以直接用水作为制备的阴性对照。

- 用自选方法纯化上述 N+2 个样品的 DNA。本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选用本公司的相关的核酸提取试剂盒。

二、设置 PCR 反应 ($20\mu\text{L}$ 体系)

- 标记 N+4 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 DNA 样品, 额外增加的两个管一个用于 PCR 阳性对照, 另一个用于 PCR 阴性对照。按照下表在各 PCR 管中加入下列成分:

成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照
2×PCR MasterMix	各 $10\mu\text{L}$	$10\mu\text{L}$	$10\mu\text{L}$
小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 引物混合液	各 $2\mu\text{L}$	$2\mu\text{L}$	$2\mu\text{L}$
制备的 N+2 个 DNA 样品	各 $8\mu\text{L}$	不加	不加
超纯水	不加	$8\mu\text{L}$	不加
小鼠线粒体 DNA 电泳法 PCR 阳性对照 (1×10^4 拷贝/ μL)	不加	不加	$8\mu\text{L}$

- 上机进行 PCR, PCR 反应参数为:

过程	温度	时间
预变性	95°C	5 分钟
PCR 反应 (30 个循环)	95°C	15 秒
	55°C	60 秒
	65°C	60 秒
延伸	72°C	10 分钟

三、电泳分析

- 取 $10\mu\text{L}$ 扩增产物进行常规琼脂糖电泳, 检测扩增效果, 由于扩增产物较短, 建议用 1.5%-2.0% 的琼脂糖凝胶。
- 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 470bp。如果两个阴性对照 (样品制备阴性对照或 PCR 阴性对照) 有此扩增产物, 说明环境污染, 则整个实验无效, 不需要分析实验结果。如果所有样品和 PCR 阳性对照均无此扩增产物, 则说明有系统性的问题 (试剂, 设备, 程序, 操作等), 需要重复并排查原因。

	7. 如果没有上述两种情况，则实验有效，可以分析样品的扩增结果。N+2 个样品中扩增产物的判断为阳性，无则判定为阴性。
关联产品	小鼠线粒体 DNA 荧光及可视化 LAMP 检测试剂盒