

案例四：鼠尾直扩的扩增例

[数据提供：上海医学院，程老师，主要从事肾脏生理及病理生理研究]

目的：

在实验室里经常进行小鼠的实验，但从小鼠尾巴抽提 DNA 作为样品进行 PCR 分析是个很烦杂且花时间的步骤。本实验探讨直接使用试剂盒 Rapid Mouse Genotyping Kit，无需纯化其扩增产物，通过琼脂糖凝胶电泳确认扩增结果。

案例材料：

小鼠尾巴

Rapid Mouse Genotyping Kit (NovaBio #D201)

引物：Primer F : CACATCTCTTGACACTGCTTGC (Tm : 58.3°C/Primer5 计算，产物长度：1516+873bp)

Primer R: CCACTGATAGAAGTGCCTAACATGC (Tm : 62.3°C/Primer5 计算)

小鼠基因组 DNA 粗提

1. 取 1-2mm 小鼠尾巴（小鼠耳朵、脚趾亦可）至离心管，加入 75 μ L Lysis buffer A，涡旋混匀并离心。
2. 95°C 孵育 3 - 10 min，室温放置 30 s。
3. 加入 75 μ L Lysis buffer B，涡旋混匀并瞬离即可获得可以用于 PCR 的小鼠 DNA。

PCR 体系：

ddH ₂ O	8 μ l
2×Ultra Taq PCR Mix	10 μ l
Mouse tail lysate	1 μ l
上游引物+下游引物	0.5 μ l + 0.5 μ l

PCR 程序：

95°C 3min

95°C 15sec

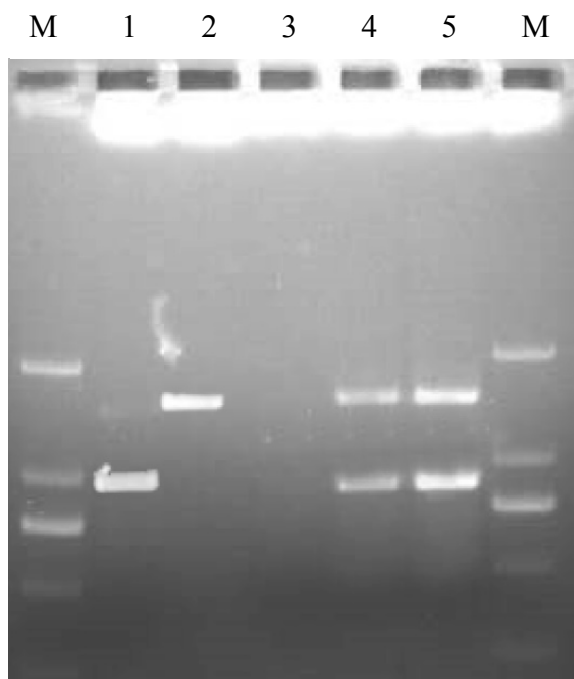
64°C 20sec

72°C 1min10sec

} 35 cycles

72°C 5min

结果：



M: DL2000 Ladder
 1: 突变型 873bp
 2: 野生型 1516bp
 3: 空白对照
 4-5: 杂合型 873bp + 1516bp

附录：

扩增片段：

```
CCACTGATAGAACTGCCTAACATGCAAAACCTGGGTTCCATTCCAATACTGATAAAGAAAGAACAAAATCAAGTCTCAGCATCATGGTAGCC
CACTGCCTCATGACAATAGATACAACATAACAACAAAGTGAAGAAAAAATGAAAAGTGAAGTGGGCTTGGTGGTGCAGACAGACTTGTACTC
CCAACACTCAGGAGGCTGAGGCAGGAGGGTTGCCATGAGTTCAAGGCCTGCCTCAAACACTACAACTGATTCTCAGGGGTCACAAGGAGACAGT
GATAGTAAATGCTTTTTCTTAAATGTGCTTTAGCATATAGCTGAAAACATTCTAAGAAATCATTTTTCTTTTGTGAAAATGAGTTTTTGTCTGG
ATACAGTAACCTACACCACAGTGGAGACCTGATACCCTGCTTATGCCAGGGGTCAGAAGCCACAGAAGTCCCTCAGGTTGGAGAAACAATCTG
CTAGAGGAGAATCCTGGAGACATTGTGACCATCCAACCTTTTTGAGTATTATACAAGTGGGAAATATGCCATCTATCAATAAACTGTTTAAAT
GGAACGGCACACCACAATGCTCACCTTCCACCTACTTGGGAAGCAAGGCAGGGGAATCAGGAAGTCAAGTACACTACATAGTGAGAGTCTGGCTGT
ATCACCACCATGCTGAAAGGTAGGAGGGGGAGGGGGAGCAGAGAGAAGGCCTAGATCCCTGGTTCAGCCTGTAACCTCAAGACCAACC
AATGAGTCATACCTAATGGTGTGAGGGTGCAGGTCCTTCTCCAGGGAGCCATCCACATGGTACTGGGAATGCCGGATGAGGAAGATGTGCCTTGT
GGCCTTGGCCTTATAGTGATCCAGCCTGGATGTCAACTCGTCTTCTCCAGATTCCACATTCCTTTTCTCAGGTTAATGAGTGACAGTGGCTCTCG
CCTAATTGTAAGATATGTCTTATCTTATGACCTCTTGTCCAAGACACCTTTCAGTGTGGGAAAAGGCCTGGGGGAGAAGCCAGGCCAGAG
AGCCTAGCCTCACAGACTTTCGAAAAGGCTAGGCTCGCTCTGGTTGATACATATATTTCCTGCATATAACATGAAGCCTCAGGTTTCATGT
TCCTGGTGAAGACAGGCTGGGTGAAGAGATGGCTCACAGGTTAAAGTGTGTTATACAAGCAGGAAGACTAGAGTCCAGAAGCCACATAAAT
ACTGGGTAGGTATAATGGCCACTTATAATTGCAGCCTCAGAACGTGGAGACGGGACCCCTAGAAGAAGCTGTCTAGTCAAGTACTTGTGTTG
CAAGTTCTCGTTTACTGAGAGGCCATGCCTTAAACAATAATCCAGAAGTATGATTGAGAAACAATTTCCATAACTACCCCGGGCTTTCCACA
GACCTACACACATGTGATCTCACACAGTGCACATGAGACGGGAAAAAAAAAAAAAGGAGAAACCAATGATGCCTCAAATAAGCAAGCAGTG
TCAAGAGATGTG ( GC%= 45.8% ; 1516bp )
```