

鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒

项目号: M665559

储存条件: 室温。

产品内容

Component	M665559
	50preps
BufferGTT	15mL
BufferGL	15mL
BufferGW1 (concentrate)	13mL
BufferGW2 (concentrate)	15mL
BufferGE	15mL
ProteinaseK	1.25mL
SpinColumnsDMwithColLlectionTubes	50

产品简介

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的小鼠或大鼠鼠尾中提取高纯度的总 DNA。该试剂盒提供的方法简单易行,纯化过程无需苯酚或氯仿抽提,可获得最大为 50kb 的 DNA 片段,同时对 100bp 的片段也能有效回收。本试剂盒采用独特的裂解液,有效裂解鼠尾样本,优化的缓冲体系使裂解鼠尾后产生的 DNA 高效结合到硅基质吸附柱上,而其他污染物可流过膜;PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除,最后使用低盐缓冲液或水洗脱,即可得到高纯度的 DNA。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-TimePCR、文库构建、SouthernBlot、分子标记等下游实验。

自备试剂: 无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在 BufferGW1 和 BufferGW2 中加入无水乙醇。
3. 使用前请检查 BufferGL 是否出现结晶或者沉淀,如有结晶或者沉淀,请将 BufferGL 于 56°C 水浴重新溶解。

操作步骤

1. 取一段大鼠或两段小鼠长度为 0.4-0.6cm 的尾巴,在液氮中研磨成细粉或剪碎放入离心管(自备)中
加入 180 μ L BufferGTT,振荡混匀。
注意:确保组织的起始量不要超出推荐范围。
2. 加入 20 μ L ProteinaseK,涡旋振荡,彻底混匀。
3. 置于 56°C 水浴,直至组织溶液完全清澈,一般情况下需要消化 6-8 小时,孵育过程中

涡旋震荡，使样品均匀分散。

注意：1) 如果孵育和涡旋震荡后仍然有胶状物质，必要时过夜消化或再加入 20 μ L ProteinaseK 消化，不会影响后续操作。

2) 如需去除 RNA，在上述步骤完成后加入 4 μ L 100mg/mL 的 RNaseA 溶液，震荡混匀，室温放置 5-10 分钟。

4. 12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 1 分钟，以除掉未消化的类似于鼠毛等组织。将上清转移到一个新的离心管（自备）中。

5. 加入 200 μ L BufferGL，涡旋震荡，充分混匀。加入 200 μ L 无水乙醇，涡旋震荡，充分混匀。短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。

注意：

1) 加入 BufferGL 和无水乙醇后要立即涡旋震荡混匀。

2) 如果多个样品一起操作，BufferGL 和无水乙醇可以等比例混匀后一起加入样品。

3) 加入 BufferGL 和无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。

6. 将步骤 5 中所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（SpinColumnsDM）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500 μ L BufferGW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

8. 向吸附柱中加入 500 μ L BufferGW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：如需进一步提高 DNA 纯度，可重复步骤 8。

9. 12,000rpm 离心 2 分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR 等）。

10. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空加入 50-200 μ L BufferGE 或灭菌水，室温放置 2-5 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟，收集 DNA 溶液，-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意：

1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5（可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围），pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。

2) 离心之前室温孵育 5 分钟可以增加产量。

3) 用另外的 50-200 μ L BufferGE 或灭菌水再次洗脱可以增加产量。

4) 如果要提高 DNA 的终浓度, 可以将步骤 10 所得的 DNA 洗脱液重新加至吸附膜上, 重复步骤 10; 若洗脱体积小于 200 μL , 可以增加 DNA 的终浓度, 但可能会减少总产量。如果 DNA 的量小于 1 μg , 推荐用 50 μL BufferGE 或灭菌水洗脱。

5) 因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响, 如需长期保存, 推荐用 BufferGE 洗脱并于 -20°C 保存。