鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒

金普来 Gene-Protein Link

产品货号	G01E33S	G01E33M	G01E33L	贮存条件
产品规格	20T	50T	100T	RT
Buffer TA	8mL	20mL	40mL	RT
Buffer TB	8mL	20mL	40mL	RT
Buffer TC	10mL	25mL	50mL	RT
Buffer TD	10mL	25mL	50mL	RT
Buffer TE	4mL	10mL	20mL	RT
蛋白酶	1mL	2mL	4mL	2～8℃
DNA结合柱	20管	50管	100管	RT

【产品介绍】

本试剂盒采用独特的硅胶膜柱分离法，可以在 60～90min 内从 0.5～1cm 幼年或成年小鼠的新鲜/冻存鼠尾中提取到 10～20μg 高质量/高纯度基因组 DNA，纯化获得的基因组 DNA 片段大小约为 23kb。

由于鼠尾的特殊构造，使得鼠尾处理时间长，基因组 DNA 易降解，另外处理也较为困难，使得提取的基因组 DNA 纯度低。本试剂盒突破传统的上述困扰，使得本试剂盒可以在 45 min 内消化鼠尾样品（无需过夜处理），从而最大程度上避免了基因组 DNA 的降解，缩短了样本处理时间。此外，本试剂盒也可以提取出鼠尾外的鼠其他组织，包括鼠耳（10～50mg）、鼠肌肉（10～50mg）、鼠肝脏等组织，应用较为广泛。

本试剂盒全程可在室温条件下操作，只需使用普通离心机，无 RNA 酶污染，全程 90min 内完成。采用本试剂盒提取到的基因组 DNA 片段大，纯度高，可用于多种下游分子实验，例如：酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验等。

【需要未提供】

- 鼠尾样本
- 无水乙醇
- 普通离心机，水浴锅/金属浴
- 加样器，2mL 离心管/容器等

【使用前准备】

1. 所有实验步骤均在常温(15～25℃)进行(包括离心)，切勿使用冰浴和低温(4℃)离心。
2. 使用前，请在 Buffer D 中加入无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。
   Buffer D 中无水乙醇的添加量见下表：

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E33S	20T	24mL
G01E33M	50T	60mL
G01E33L	100T	120mL

【使用方法】

1. 样本处理：剪取 0.5～1cm 鼠尾(大概 15～30mg),剪碎后放入 1.5mL 或 2mL 干净的离心管中。

   注：鼠尾应尽量剪碎剪短成 1mm 左右小段，以便于后续酶解反应。

2. 向上述离心管中加入 400μL 的 Buffer A，以及 40μL 蛋白酶，涡旋混匀。置于 65℃金属浴或水浴 30～60min(鼠其他组织 10～30min 即可)，其间每次间隔 10min，涡旋混匀一次(或用手指用力弹击离心管底部数次，需见到溶液混旋)以帮助鼠尾酶解，直至只剩毛发和骨骼为止。

   注：涡旋时间不宜太长，每次 5 秒钟即可，长时间的剧烈涡旋会导致基因组 DNA 断裂。

3. 酶解完成后，加入 400μL 的 Buffer B，此时会有上下分层出现，颠倒混匀至分层消失，置于 65℃金属浴或水浴中 10min。

   注：即便完全酶解也会剩下鼠尾骨骼和些许毛发，但不影响后续操作。

4. 在 12,000rpm(～13,400×g)离心 5～10 min。
5. 将上清液用移液器转移到 DNA 结合柱中，切记不要吸到沉淀。

   注：如果吸取的上清液中还有微小沉淀，可将其转移至新的离心管中再次离心后取上清，加入离心柱中。

6. 在 12,000rpm(～13,400×g)离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
7. 往结合柱中加入 500μL 的 Buffer C，在 12,000rpm(～13,400×g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
8. 往结合柱中加入 700μL 的 Buffer D，在 12,000rpm(～13,400×g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 将离心柱放回收集管中，在 12,000rpm(13,400×g)离心 2min，去掉离心柱中残余的 Buffer D。
11. 将离心柱转移至新 2 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加 100μL 的 Buffer E(严禁将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，在 65℃金属浴/水浴放置 5min，在 12,000rpm(～13,400×g)离心 1 min。再次向胶膜中央悬空滴加 100μL 的 Buffer E，在 65℃金属浴/水浴放置 5min，在 12,000rpm(～13,400×g) 离心 1min。将两次收集的洗脱液汇集。

    注：如果希望提高 DNA 的浓度，可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中，在 65℃金属浴/水浴放置 5min，在 12,000rpm (～13,400×g) 离心 1min 得到液体。

【DNA 浓度/纯度测定】

- DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
- DNA 的 OD260 值为 1 约等于 50μg/mL 双链 DNA。
- DNA 的 OD260/280≈1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer E，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

【注意事项】

- 除蛋白酶组分之外，本试剂盒在室温条件下贮存，有效期可达一年。在 2～8℃条件下可贮存更长时间。但在低温条件下贮存时，试剂容易产生沉淀。使用前需将试剂在室温条件下放置一段时间，必要时需在 37℃水浴中预热 10min，使沉淀溶解后再使用。
- 蛋白酶具有独特配方，常温条件下可贮存 3 个月，在 4℃条件下贮存可达一年以上，切勿置于-20℃贮存。
- Buffer B、Buffer C、蛋白酶具有刺激性，操作时请进行相关防护措施（佩戴口罩/手套等）。
- Buffer D 具有易燃性，应遵循相应规范流程。
- 本试剂盒中结合柱 DNA 的最大承载量为 80μg，离心柱液体最大承载量为 800μL。
- 洗脱体积：洗脱液体积在 100～200μL 之间最宜，否则会影响 DNA 回收率。
- DNA 产率和质量与鼠尾新鲜程度、保存条件和洗脱体积有关，建议使用量在 0.5～1cm 为宜，可获得 10～20μg 的高纯度 DNA。
- 样品应避免反复冻融，否则会导致 DNA 提取量下降。
- 切勿在任何组分中添加 RNA 酶。
- 本产品仅用于科学研究用途。

【相关产品】

货号	产品名称	规格
G01E30	植物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G01E31	动物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G01E32	血液基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G06Q02	琼脂糖	100g
G06Q00	GPL Safe Green 安全核酸染料	500 μL
G06Q01	GPL Safe Red 安全核酸染料	500 μL
G02C01	2×PCR Mix (+Dye)	1mL/5mL/50mL

Version：20190118（第一版）