



# Mouse Tail Genomic DNA Kit

## 鼠尾基因组DNA提取试剂盒

**目录号：** CW2094S (50 preps)

**保存条件：** 室温（15-30℃）

### 产品内容

Component	CW2094S 50 preps
Buffer GTT	15 mL
Buffer GL	15 mL
Buffer GW1 (concentrate)	13 mL
Buffer GW2 (concentrate)	15 mL
Buffer GE	15 mL
Proteinase K	1.25 mL
Spin CoLumns DM with CoLLection Tubes	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50 kb的DNA片段，同时对100 bp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-Time PCR、文库构建、Southern BLOT、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Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇。
3. 使用前请检查Buffer GL是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer GL于56℃水浴重新溶解。

## 操作步骤

1. 取一段大鼠或两段小鼠长度为0.4-0.6 cm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  $\mu$ L Buffer GTT，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  $\mu$ L Proteinase K，涡旋振荡，彻底混匀。
3. 置于56℃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  $\mu$ L Proteinase K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  $\mu$ L 100 mg/mL的RNase A溶液（货号：CW06015），震荡混匀，室温放置5-10分钟。**

4. 12,000 rpm (~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  $\mu\text{L}$  Buffer GL，涡旋震荡，充分混匀。加入200  $\mu\text{L}$ 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Buffer GL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，Buffer GL和无水乙醇可以等比例混匀后一起加入样品。**

**3) 加入Buffer GL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（Spin CoLumns DM）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm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  $\mu\text{L}$  Buffer GW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm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  $\mu\text{L}$  Buffer GW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm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. 12,000 rpm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  $\mu\text{L}$  Buffer GE或灭菌水，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液， $-20^{\circ}\text{C}$ 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  $\mu\text{L}$  Buffer GE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  $\mu\text{L}$ ，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  $\mu\text{g}$ ，推荐用50  $\mu\text{L}$  Buffer GE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Buffer GE洗脱并于 $-20^{\circ}\text{C}$ 保存。**