

# M5 Mouse Tail Genomic DNA Kit

## 鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Mouse Tail Genomic DNA Kit	50T	MF315-01

### 【储存条件】

常温运输，室温（15~30°C）保存。

### 【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。

### 【产品组份】

	50T
Buffer GTT	15 ml
Buffer GL	15 ml
Buffer GW1 (concentrate)	13 ml
Buffer GW2 (concentrate)	15 ml
Buffer GE	15 ml
Proteinase K	25mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25ml
Spin Columns DM With Collection Tubes	50

### 【自备试剂】

无水乙醇

### 【实验准备】

1. 向 Proteinase K 中加入 1.25 ml Proteinase K Storage Buffer 使其溶解，-20°C 保存。

配制好的 Proteinase K 勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。

2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。

3. 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。

4. 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， Buffer GL 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 0.4-0.6 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 µl 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 µl Proteinase K，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  $\mu$ 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，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  $\mu$ l Buffer GL，涡旋震荡，充分混匀。加入 200  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 $^{\circ}$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ g，推荐用 50  $\mu$ 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 $^{\circ}$ C 保存。

#### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。