



小鼠尾巴基因组 DNA 提取扩增试剂盒

产品信息:

试剂盒组成	保存	AK102-01 50 次	AK102-02 200 次	保存条件:
Tail A	室温	6ml	24ml	
Tail B	室温	6ml	24ml	
2xTaq PCR MasterMix	-20℃	1ml×2	1ml×6	
PCR 灭菌水	室温	10ml	10ml	

Tail A 和 Tail B 室温（15–25℃）干燥条件下可保存 12 个月； 2×Taq MasterMix 可-20℃长期保存，多次冻融不会影响活性，如需经常使用,可存放于 4℃。

产品介绍:

本试剂盒采用独特的缓冲体系，试剂盒包含了快速制备基因组 DNA 和 PCR 扩增的所有试剂，适用于从小鼠尾巴一步法提取基因组 DNA 并用于 PCR 扩增。整个提取过程无需有机溶剂抽提，简便、快捷，而且质量稳定可靠。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点。**此试剂盒用于快速提取鼠尾 DNA。提取的 DNA 仅适用于 PCR 反应，不能用于酶切。**

注意事项:

- 裂解缓冲液应放置于室温保存，如放在低温（-20℃或4℃）保存时有沉淀析出，可在56℃水浴中重新溶解沉淀，并摇匀溶液后使用。
- 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。

操作步骤:

- 取材：用剪刀或刀片切取0.5cm长度的鼠尾置于0.2ml的PCR管中，往每管中加入100μl Tail A溶液。（如实验室中有加热块装置可以将鼠尾置于1.5ml离心管中进行相同操作）；
注意：鼠尾的长度和最后溶解DNA的溶液量是实验的关键，应视具体条件而定，最好做预实验来确定这两个变量。
- 用200μl吸头将鼠尾捣几下。激烈程度最好使尾部皮肤和尾骨分离，皮肤破碎。（如果处理的是幼鼠尾巴，可以预先剪掉200μl吸头前部0.2-0.3cm，用这种变成宽口吸头可以很容易将鼠尾破碎）；
- 置于PCR仪（或加热块装置）上98度保持10min以裂解细胞；
- 用200μl吸头轻轻吹吸几下，并将100μl裂解物转移到1.5ml离心管中，加入100μl Tail B溶液,混匀，此时可立刻看见白色沉淀出现；
- 12,000离心5min，去除沉淀物；
- 小心吸取150μl左右的上清转移到另一个干净的1.5ml离心管中；
- 补加500μl的冷乙醇（乙醇冻存于-20度至少2小时），颠倒混匀，置于室温5min；
- 12,000离心10min，弃上清；
- 加入1ml 70%乙醇，12,000离心1 min，弃上清。（如果处理大量样本，倒掉上清后立刻将管口倒扣在干净的吸水纸上，吸水纸可最大程度地将下流的乙醇吸干，同时乙醇会慢慢挥发，一般这种干燥方法需要30-60min）；
- 12,000离心30 sec，用干净吸头吸掉剩余的乙醇，注意别吸掉沉淀物；
- 打开管口，室温放置10 min，使乙醇完全挥发干净；
- 加入50μl TE缓冲液或无菌水，溶解DNA
- PCR扩增，一般取2-5μl用于PCR反应。

反应举例：

2x Taq MasterMix	25 μ l
模板DNA	2-5 μ l
正向引物（10 μ M）	1 μ l
反向引物（10 μ M）	1 μ l
灭菌水	补足到50 μ l

PCR反应循环的设置：94 $^{\circ}$ C 3min；94 $^{\circ}$ C 30sec，55 $^{\circ}$ C 30sec，72 $^{\circ}$ C 1min 30 循环；72 $^{\circ}$ C 5min；

结果检测：反应结束后取5 μ l反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

注意：举例仅供参考，实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况设定最佳反应条件。