



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
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

保存条件:

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。