

Version Number : 1.1



## Mouse Tail DNA Mini Kit

Cat.No.DE-05211

For fast genomic DNA purification from mouse tail in 1 hour

For research use only

Store at room temperature



## 目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
基因组 DNA 的应用	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
DNA-Only Column 特性	6
基因组 DNA 提取得率和纯度	6
基因组 DNA 片段大小	7
注意事项	7
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
自备试剂	8
安全性	8
操作指南	9
● 操作步骤	10
DNA 浓度及纯度测定	11
快速操作示意图	12
问题分析指南	13

## 产品介绍

由于鼠尾自身的结构和性质，提取鼠尾基因组 DNA 一直以来都困扰着研究人员：一是鼠尾处理时间长，基因组 DNA 易降解；二是处理困难，提取的基因组 DNA 纯度低。

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的 DNA-Only Column、全新的 Foregene Protease 以及独特的缓冲液体系，可以在 45 min 内消化鼠尾样品，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。试剂盒可以在 **60-90 min** 内从 0.5-1 cm 幼年或成年小鼠鼠尾中提取到 **10-20 µg** 高质量、高纯度基因组 DNA。

离心柱中采用的 DNA-only 硅胶基质材料为本公司特有的新型材料，能高效、特异的吸附 DNA，对 DNA 的最大吸附量为 80 µg，独特的缓冲、洗脱体系可最大限度的去除 RNA、杂质蛋白、离子及细胞中其他有机化合物。提取得到的基因组 DNA 片段大、纯度高、质量稳定可靠，DNA 片段大小稳定在 23 kb 左右。

也可以使用该试剂盒提取出鼠尾外的鼠其他组织，包括鼠耳、鼠肌肉、鼠肝脏等组织，做到一试剂盒多用，满足用户进行不同的实验需要。

## 产品特点

- ◆ 无 RNA 酶污染：试剂盒提供的 DNA-Only Column 使得实验过程中无需额外添加 RNA 酶即可去除基因组 DNA 中的 RNA，避免实验室遭受外源 RNA 酶污染。
- ◆ 速度快：Foregene Protease Plus 具有比同类蛋白酶更高的活性，搭配 Buffer TL1 酶解缓冲液可以在 45 分钟内完全酶解鼠尾组织，无需 4℃ 过夜处理；操作简单，基因组 DNA 提取操作在 90 分钟内即可完成。
- ◆ 方便：离心操作均在常温，无需 4℃ 低温离心或乙醇沉淀 DNA。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取获得的基因组 DNA 片段大、无 RNA、无 RNA 酶、离子含量极低，能满足各种实验的要求。

## 试剂盒应用

适用于新鲜或冻存的大、小鼠鼠尾(也可以用于纯化小鼠或大鼠肌肉、鼠耳基因组 DNA) 基因组 DNA 提取纯化。

## 基因组 DNA 的应用

Mouse Tail DNA Mini Kit 纯化获得的基因组 DNA 纯度高, 可用于常规分子生物学操作, 如: 酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验。

## 产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System), 每一批次的鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒都严格进行多次测试, 确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

## 试剂盒内容

Mouse Tail DNA Mini Kit 鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒	
试剂盒组成	DE-05211
	50 T
Buffer TL1	20 mL
Buffer TL2*	20 mL
Buffer PW*	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease Plus	1 mL × 2
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

\*: Buffer TL2、Buffer PW中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

## 产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	60-90 min (24 个样品)
离心机	台式离心机	组织酶解物分离	离心分离
纯化柱 DNA 承载量	80 µg	离心柱液体盛装量	800 µL
洗脱体积	100-200 µL	鼠尾样本处理量	0.5-1 cm

## 储存条件

- ◆ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

- ◆ Foregene Protease Plus 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。

## 试剂盒组分信息

- ◆ Buffer TL1: 提供鼠尾酶解环境。
- ◆ Foregene Protease Plus: 在 Buffer TL1 的环境下酶解组织样本。
- ◆ Buffer TL2: 失活 Foregene Protease Plus, 并提供 DNA 上柱环境。
- ◆ Buffer PW: 去除 DNA 中的蛋白质、RNA 等杂质。
- ◆ Buffer WB: 去除 DNA 中的残留的盐离子。
- ◆ Buffer EB: 洗脱纯化柱膜上的 DNA。
- ◆ DNA-only Column: 特异吸附裂解产物中的基因组 DNA。

## DNA-Only Column 特性

DNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	80 µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800 µL
最大DNA片段(Longset DNA fragment)	23 kb
最小洗脱体积(Minimum elution volume) *	100 µL
最佳样本选取(Selection of samples)	新鲜鼠尾、鼠耳组织
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) *	0.5-1 cm 鼠尾

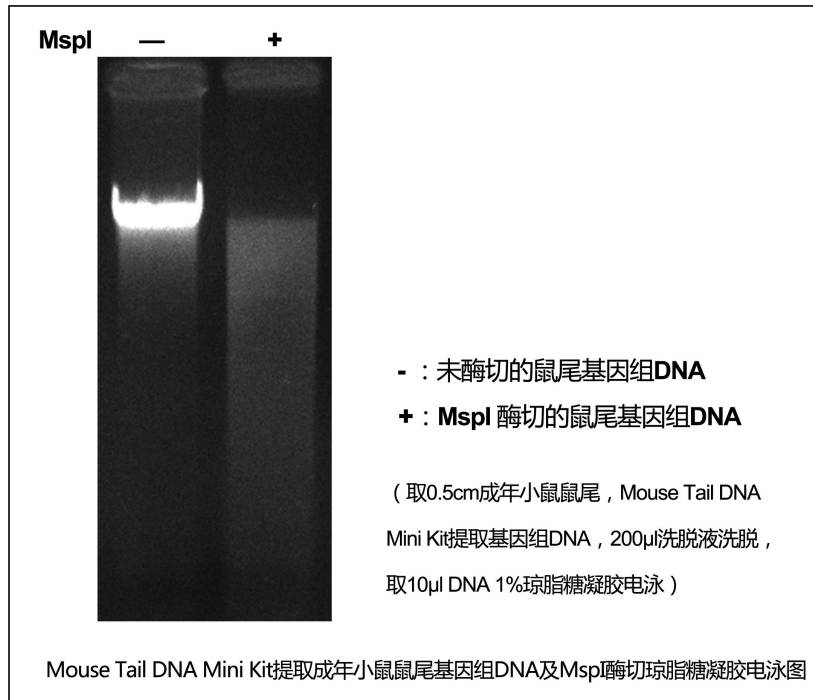
\*: 100 µL 的最小洗脱体系是在兼顾 DNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 DNA 的产量, 可以适当增加洗脱液体积; 如果为了提高纯化得到的 DNA 浓度, 在牺牲一部分 DNA 得率的前提下, 适当的减少洗脱液体积, 比如采用 50 µL 的洗脱体系, 以期得到更高浓度的 DNA。

## 基因组 DNA 提取得率和纯度

鼠尾基因组 DNA 的产量与样本大小、保存条件、酶解程度以及操作有关, 鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种有效、快速获得鼠尾基因组 DNA 的手段。获得基因组 DNA 纯度高, 降解少, 其  $OD_{260/280}=1.7-1.9$ 。

## 基因组 DNA 片段大小

鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒是采用硅胶膜柱分离纯化鼠尾基因组 DNA, 纯化获得的基因组 DNA 片段大小均在 23 kb 附近。如图:



### 注意事项: (请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ 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会下降。
- ◆ 使用前, 仔细检查 Buffer TL1、Buffer TL2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出, 若有沉淀析出, 请将其置于 37°C 溶解, 混匀后再使用。
- ◆ 试剂盒使用前, 请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前分别添加 60 mL 无水乙醇(DE-05211)。
- ◆ 洗脱体积: Buffer EB 不应少于 100 μL, 否则会影响 DNA 产量。
- ◆ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ◆ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

## 操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的完整信息和正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

## 实验材料和设备

- ◆ 各种来源的鼠尾样本(小鼠组织、鼠耳也可)。
- ◆ 1.5 mL 或 2 mL 无菌离心管。
- ◆ 台式离心机( $\geq 13,400 \times g$ )、65°C水浴或金属浴、移液器、涡旋仪等。

## 自备试剂

- ◆ 无水乙醇

## 安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医学、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时，穿戴合适的实验服，手套，防护眼镜等。
- ◆ Buffer TL2、Buffer PW 含有胍盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer WB 含无水乙醇：易燃。
- ◆ Foregene Protease Plus：增敏剂，刺激性。



## 操作指南

鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种快速处理鼠尾，纯化基因组 DNA 的方法，请严格按照鼠尾基因组 DNA 提取操作步骤进行相关实验。

## 材料取用说明

- ◆ 大鼠或小鼠鼠尾：0.5-1 cm(尽量剪碎，以提高鼠尾酶解效率，获得更高的 DNA 得率)。
- ◆ 鼠耳：10-50 mg。
- ◆ 鼠肌肉组织：10-50 mg

## 预防样本间交叉污染

为了避免样本间交叉污染，每次取样后都需要将取样器材的刃口或与样本直接接触的部位浸入 2%次氯酸钠溶液中，反复洗刷数次进行清洗，然后用干净的纸巾擦干残余液体后再进行使用。为了试验方便，也可准备多个取样器材，在使用完后进行统一清洗，确保每一单独样本均使用的是无污染的取样器材。

## 操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 样品处理：剪取 **0.5-1 cm 鼠尾**(~15-30 mg)(或适量的鼠其他组织)，剪碎后放入 1.5 mL 或 2 mL 干净的离心管中。  
注意：鼠尾应尽量剪短成 1 mm 左右小段，以便于后续酶解反应。
2. 向离心管中加入 **400  $\mu$ L Buffer TL1**，**40  $\mu$ L Foregene Protease Plus**，涡旋混匀。放置于 65°C 金属浴或水浴中 0.5-1 h(鼠其他组织，温浴 10-30 min 即可)，其间每隔 10 min 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。  
注意：涡旋时间不宜太长，每次 5 sec 即可，长时间的剧烈涡旋会导致基因组 DNA 断裂成小片段。
3. 酶解完成后，加入 **400  $\mu$ L Buffer TL2**，此时会有上下分层出现，颠倒混匀至分层消失，置于 65°C 金属浴或水浴中 10 min。  
注意：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. 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 5-10 min。
5. 将上清液用移液器转移到离心柱(DNA-Only Column)中，注意尽量不要吸到沉淀。  
注意：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. 12,000 rpm(~13,400  $\times$ g)离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
7. 往离心柱中加入 **500  $\mu$ L Buffer PW**，12,000 rpm(~13,400  $\times$ g)离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
8. 往离心柱中加入 **700  $\mu$ L Buffer WB**，12,000 rpm(~13,400  $\times$ g)离心 1 min，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，12,000 rpm(~13,400  $\times$ g)空管离心 2 min，去掉离心柱中残余的 Buffer WB。
11. 将离心柱移至新的 1.5 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加 **100  $\mu$ L** 已于 65°C 预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 5 min，12,000 rpm(~13,400  $\times$ g) 离心 1 min。再次向膜中央悬空滴加 **100  $\mu$ L** 已预

热的 **Buffer EB**, 12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 1 min。将两次收集的洗脱液汇集。  
注意: 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, 12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 1 min。

## DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。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 OD<sub>260</sub> 值为 1 相当于大约 50 µg/mL 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> ≈ 1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB, 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。

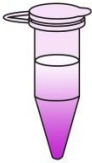
## 快速操作示意图



鼠尾0.5-1cm, 剪碎至1mm左右



样本酶解 {  
 400 $\mu$ l Buffer TL1: 提供酶解缓冲液环境  
 40 $\mu$ l Foregene Protease Plus: 65°C; 30-60min  
 400 $\mu$ l Buffer TL2: 65°C; 10min



离心: 13,400 $\times$ g; 5-10min (去沉淀, 上清液过纯化柱)



吸附: 上柱吸附基因组DNA (13,400 $\times$ g; 1min)



洗涤1: 500 $\mu$ l Buffer PW (13,400 $\times$ g; 1min)  
去蛋白、去RNA

洗涤2: 700 $\mu$ l Buffer WB 两次 (13,400 $\times$ g; 1min)  
脱盐



离心: 空管离心 (13,400  $\times$ g; 2min)  
去残留乙醇



洗脱: 100-200 $\mu$ l Buffer EB或ddH<sub>2</sub>O (13,400 $\times$ g; 1min)  
(添加Buffer EB后室温5min, 再离心以增加洗脱效率)

## 问题分析指南

以下针对鼠尾基因组 DNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-83360257 或 E-mail: Tech@foregene.com。

### 低产量或无 DNA

通常有多种因素会影响鼠尾基因组 DNA 产量，包括鼠尾来源、样本保存条件、酶解程度、操作等。

### 提取过程中无法获得基因组 DNA

1. 组织样本保存不当或保存时间太长，导致基因组 DNA 已经降解。  
建议：组织样本保存于液氮或者-80℃；尽量用刚剪取的鼠尾样本进行基因组 DNA 的提取。
2. 鼠尾没有进行剪碎处理。  
建议：由于鼠尾自身结构复杂，尽量将鼠尾剪短至 1 mm 左右，这样可以使酶解进行的更彻底；对于老年小鼠鼠尾，可以适当增加酶解时间。
3. Foregene Protease Plus 保存不当，导致其活性降低或失活。  
建议：确认 Foregene Protease Plus 保存条件或者更换新的 Foregene Protease Plus 进行酶解反应。
4. 试剂盒保存不当或存放时间太长，导致试剂盒里面某些组分失效。  
建议：购置新的通用型基因组 DNA 提取试剂盒进行相关操作。
5. Buffer WB 没有添加无水乙醇。  
建议：确认 Buffer WB 中添加正确体积的无水乙醇。
6. 洗脱液没有正确滴加到硅胶膜上。  
建议：将洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 2 分钟增加洗脱效率。

## 提取获得低产量基因组 DNA

1. 样本保存不当或保存时间太长，导致基因组 DNA 降解。  
建议：组织样本保存于液氮或者 $-80^{\circ}\text{C}$ ；尽量采用新近采取组织样本进行基因组 DNA 的提取。
2. 鼠尾剪取太短，提取到的基因组 DNA 含量会较少。  
建议：鼠尾用量建议为 0.5-1 cm，以便提取获得可观的基因组 DNA。
3. 鼠尾没有进行剪碎处理。  
建议：由于鼠尾自身结构复杂，尽量将鼠尾剪短至 1 mm 左右，这样可以使酶解进行的更彻底。
4. Foregene Protease Plus 保存不当，导致其活性降低或失活。  
建议：确认 Foregene Protease Plus 保存条件或者更换新的 Foregene Protease Plus 进行酶解反应。
5. 鼠尾酶解时间太短。  
建议：酶解时间不宜太短，应大于 30 分钟。 $65^{\circ}\text{C}$ 酶解 1 小时可以完全消化鼠尾组织，只剩骨骼和毛发。对于成年小鼠或老年小鼠可以适当增加酶解时间，以便酶解更彻底。
6. 洗脱液问题。  
建议：请使用 Buffer EB 进行洗脱；如果使用 ddH<sub>2</sub>O 或其他洗脱液，确认洗脱液的 pH 值在 7-8.5 之间。
7. 洗脱液没有正确滴加。  
建议：请将洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 2 分钟增加洗脱效率。
8. 洗脱液体积太少。  
建议：请按说明书上要求使用洗脱液进行基因组 DNA 洗脱，最少不要低于 100  $\mu\text{L}$ 。

## 提取获得基因组 DNA 纯度低

基因组 DNA 纯度低会导致下游实验的失败或效果差，如：酶切不开，PCR 得不到目的基因片段等。

1. 杂蛋白污染、RNA 污染。  
分析：没有使用 Buffer PW 洗涤纯化柱；Buffer PW 洗涤纯化柱没有使用正确的离心转速。  
建议：在上清液过柱时尽量保证上清液中无沉淀；务必按说明书进行 Buffer PW 洗

涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

2. 杂质离子污染。

分析：省略了 Buffer WB 洗涤纯化柱或者只洗涤了一次，导致残留的离子污染。

建议：务必按说明书使用 Buffer WB 洗涤 2 次，以尽量去除残留的离子。

3. RNA 酶污染。

分析：Buffer 中添加了外源的 RNA 酶；Buffer PW 洗涤操作不正确，导致 RNA 酶残留，影响下游 RNA 实验操作，如：体外转录等。

建议：Foregene 系列核酸提取试剂盒无需额外添加 RNA 酶即可去除 RNA，Mouse Tail DNA Mini Kit 里面所有试剂均无需添加 RNA 酶；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

4. 乙醇残留。

分析：Buffer WB 洗涤纯化柱后，没有进行空管离心操作。

建议：按说明书进行正确的空管离心操作。

中国·凡晶      World's Foregene

成都凡晶生物技术有限公司

电话：028-83360257, 028-83361257

E-mail: [info@foregene.com](mailto:info@foregene.com)

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

