

组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒

使用手册

- ◆ 产品编号：DN12
- ◆ 常温，避光保存（15-25℃）
- ◆ 本产品仅供科研使用

一、产品介绍：

本试剂盒采用进口 DNA 吸附材料和独特的缓冲液体系，用于快速提取各种培养细胞、动物组织中的基因组 DNA。独特的缓冲液体系和蛋白酶 K 能快速裂解细胞或组织，离心吸附柱采用进口硅基质材料，能够实现选择性吸附 DNA，蛋白质和其它杂质会在离心时随溶液穿透，最大程度地保证了吸附柱上 DNA 的纯度和产量。

本试剂盒适用于各种动物细胞、动物组织的基因组 DNA 提取，操作过程快速、简捷，提取得到的基因组 DNA 片段大、纯度高，适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

二、规格及组成：

组 成	50 次包装 DN12-50	100 次包装 DN12-100
溶液 A	20 ml	40 ml
溶液 B	20 ml	40 ml
溶液 C	25 ml	50 ml
漂洗液	50 ml	50 ml×2
DNA 洗脱液	10 ml	10 ml
蛋白酶 K	1 ml	1 ml×2
DNA 吸附柱	50 套	50 套×2
使用手册	1 份	1 份

三、注意事项：

1. 使用前请检查溶液 A 中是否有溶质析出。溶液 A 在低温环境下长时间存放，可能会出现浑浊或有固体物质析出。若出现上述现象，需将溶液 A 在 45℃ 水浴中加热至少 10min，使固体析出物彻底溶解，溶液恢复澄清，充分摇匀后才能使用，否则容易引起 DNA 提取结果异常。
2. 溶液 A、B、C 含有刺激性化合物，建议操作时戴乳胶手套、口罩及护目镜，避免沾染皮肤和衣服。若不慎沾染皮肤、眼睛时，用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医。
3. 开封后的 DNA 洗脱液不能再次标识为无菌状态，为避免存储过程中微生物滋生，建议装入自封袋后在 2-8℃ 保存，必要时可以使用灭菌的 1×TE(10mM Tris,1mM EDTA,pH7.5-8.0)进行洗脱。
4. 在 DNA 提取过程中应使用无酶的离心管及耗材，防止因耗材污染导致 DNA 降解。
5. 为确保电泳条带清晰，应定期更换电泳缓冲液并清洗电泳槽及制胶板。
6. 经常清洁离心机转子及腔室，防止残留液体形成气溶胶污染；使用离心管或吸附柱离心时，禁止开盖离心。
7. 为确保离心参数稳定，本手册使用相对离心力来确定离心机的转数，如“室温，12,000×g 离心 5min”表示在当前温度下离心 5min，离心机在对应转速下产生的相对离心力约为 12,000 倍地球引力。通常在离心机上被标识为“RCF”（Eppendorf）或“×g”（Thermo）。

四、使用方法：

注意：溶液 A 在低温下长期放置可能会产生沉淀。若出现沉淀，使用前经 45℃ 水浴 10min，使沉淀彻底溶解，充分摇匀后即可使用。

1. 培养细胞：

- a. 收集约 $10^5 \sim 10^6$ 悬浮细胞到一个 1.5mL 离心管；对于贴壁细胞，应先用胰蛋白酶消化后吹打下来再收集。
- b. $10,000 \times g$ 离心 1~2 分钟，使细胞沉淀到离心管底部，完全吸弃上清。
- c. 加入 200 μ l 溶液 A，振荡至彻底悬浮。
- d. 加入 20 μ l 蛋白酶 K(20mg/mL)溶液，涡旋振荡混匀 15 秒。
- e. 加入 200 μ l 溶液 B，涡旋振荡 15 秒，使溶液充分混匀后，在 70℃ 放置 10 分钟。
- f. 待溶液冷却后，加入 200 μ l 无水乙醇，充分振荡混匀 15 秒。
- g. 接操作步骤 3

2. 动物组织：

- a. 将新鲜或解冻的组织在液氮中研磨成细粉，或者用解剖刀切成细小的碎块（组织切得越小，消化所需的时间就越短，并有助于提高最终 DNA 的产量），取 10~50mg，转入装有 400 μ l 溶液 A 的 1.5mL 离心管中，用大口径吸头吹打混匀。

注意：对于肌肉组织，样本用量为 15~25mg 时，就可以获得比较高的 DNA 产量，而且完全消化所需的时间也比较短（约 40-60Min）；对于脾脏，建议样本用量不超过 10mg；对于其它组织样本，初次提取时，样本用量建议控制在 10~30mg 左右，如果需要更高的 DNA 产量，后期再根据实验所得 DNA 的产量和纯度对样本用量进行适当调整。

- b. 加入 20 μ l 蛋白酶 K(20mg/mL)溶液，振荡混匀 15 秒，然后在 56℃ 水浴 1~3 小时，或直到组织消化完全。期间轻柔地振荡几次帮助裂解。

注意：当组织被完全消化后，溶液会变得清澈透明，没有肉眼可见的漂浮物或杂质。如果溶液中仍有漂浮的细小块状组织或溶液偏浑浊，说明组织未被彻底消化，如果在此时直接进行下一步操作，可能会影响最终 DNA 的纯度或产量。

不同组织的裂解时间不同，通常需要 1~3 小时即可完成。DNA 在裂解体系中非常稳定，长时间消化不会导致 DNA 降解。

如果需要缩短组织消化的时间，或者样本中的脂肪含量比较高，可以在 56℃ 只水浴 10~20 分钟，然后增加【可选步骤 d】的操作。

- c. 加入 400 μ l 溶液 B，涡旋振荡 15 秒，使溶液充分混匀后，在 70℃ 放置 10 分钟。
- d. **【可选步骤】**：如果需要缩短步骤 b 的消化时间，或者样本中的脂肪含量比较高，或因加入了过量的组织导致消化时间非常长，则可以在溶液冷却后，加入 200 μ l 水饱和酚和 100 μ l 氯仿，充分振荡混匀 15 秒，在 $12,000 \times g$ 离心 3~5 分钟后，将 700~800 μ l 上清转移到一新的 1.5mL 离心管中。

注意:离心后溶液将分为三层:上层水相含有 DNA; 下层有机相含有脂类及其它杂质; 中间层含有变性的蛋白质等。吸取上清时应避免触及中间层及下层有机相。

e. 待溶液冷却后, 加入 400 μ l 无水乙醇, 充分振荡混匀 15 秒。

注意: 如果进行了【可选步骤 d】, 则加入无水乙醇的体积为上清液体积的 1/2

f. 接操作步骤 3

3. 将上一步所得溶液加入到一个 DNA 吸附柱中 (每次最多 700 μ l, 多可以分两次), 室温 12,000 $\times$ g 离心 1 分钟, 弃穿透液。
4. 向 DNA 吸附柱中加入 500 μ l 溶液 C, 静置 30 秒, 室温 12,000 $\times$ g 离心 1 分钟, 弃穿透液。
说明: 溶液 C 可以去除残留的 RNA 及蛋白质污染。
5. 向 DNA 吸附柱中加入 500 μ l 漂洗液, 室温 12,000 $\times$ g 离心 1 分钟, 弃穿透液。加入 500 μ l 漂洗液, 重复一遍。
6. 室温 12,000 $\times$ g 离心 2 分钟。此步非常重要, 否则残留的乙醇会影响 DNA 的使用。
7. 将 DNA 吸附柱转移到一新的收集管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50~100 μ l DNA 洗脱液, 室温放置 3~5 分钟。
8. 室温 12,000 $\times$ g 离心 2 分钟, 离心管中溶液即为 DNA 样品, 可以立即使用或存放于-20 $^{\circ}$ C待用。

产品咨询: 18040311981

公司 QQ: 24111785

公司微信: 右侧二维码

成都百菲特科技有限公司

<http://www.biofit.com.cn>

