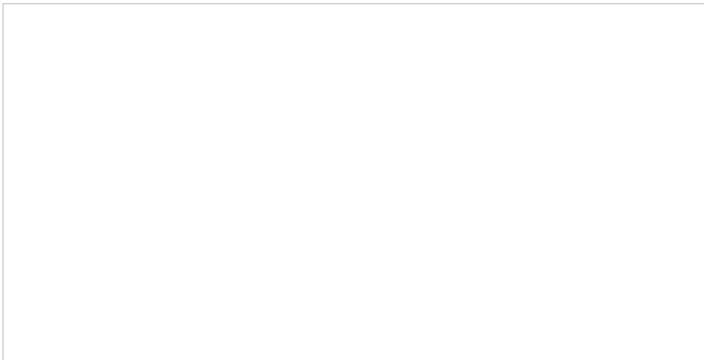


动物组织/细胞基因组DNA提取试剂盒

产品简介：

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，提取革兰氏阳性菌基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，能够高效专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。使用本试剂盒提取的基因组DNA可用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

产品组成：



操作步骤：

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶体上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1.样品的处理：

a、细胞：取 1×10^6 - 1×10^7 个悬浮培养细胞，12000rpm 离心 1min 收集细胞，贴壁细胞先用胰蛋白酶消化处理，再用预冷的 PBS 吹打成细胞悬液，然后 12000rpm 离心 1min 收集细胞，尽量除去上清，加 200ul 溶液 A，振荡至彻底混匀。

b、组织：组织量不宜过大，一般不要超过 25mg，可以使用匀浆器匀浆，最好用液氮研磨成粉末状，再用预冷的 PBS 或无菌水充分悬浮，然后 12000rpm 离心 1min 收集细胞，尽量除去上清，加 200ul 溶液 A，振荡至彻底混匀。向悬浮液中加入 20ul 的 RNase A (10mg/ml)，55°C 放置 15min。

加入 20ul 的蛋白酶 K (10mg/ml)，充分颠倒混匀，55°C 水浴消化，细胞消化时间较短，组织消化时间较长，一般需要 1-3 个小时才能完成（鼠尾需要消化过夜）。消化期间可颠倒离心管混匀数次，直至样品消化完全为止。消化完全的指标是：液体清亮及粘稠。

加入 200ul 体积溶液 B，充分颠倒混匀，如出现白色沉淀，可放置于 75°C 15-30min，沉淀即会消失，不影响后续实验。如溶液未变清亮，说明样品消化不彻底，可能导致提取的 DNA 量少及不纯，还有可能导致堵塞吸附柱。

加入 200ul 无水乙醇，充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中。

12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。

向吸附柱中加入 600ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。

向吸附柱中加入 600ul 漂洗液, 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。

12000rpm 离心 2min, 将吸附柱敞口置于室温或 50°C温箱放置数分钟, 目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。

10. 将吸附柱放入一个干净的离心管中, 向吸附膜中央悬空滴加 50-200ul 经 65°C水浴预热的洗脱液, 室温放置 5min, 12000rpm 离心 2min。

11. 可将离心所得洗脱液再加入吸附柱中, 12000rpm 离心 2min, 即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项:

试剂盒拆封后, RNase A 和蛋白酶 K 需放置-20°C保存。

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。

如果试剂盒中的溶液出现沉淀, 可在 65°C水浴中重新溶解后再使用, 不影响效果。

洗脱缓冲液的体积最好不少于 50ul, 体积过小会影响回收效率; 洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响, 若需用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围), pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。

保存条件:

室温(15°C-25°C) 干燥保存, 复检期 12 个月, 2-8°C保存时间更长。