

动物组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒

货号：AC11012

规格：50T/ 100T

保存：室温(15℃-25℃) 干燥保存，复检期 12 个月，2℃-8℃ 保存时间更长。RNase A 和蛋白酶K -20度保存。

试剂盒内容：	50T	100T
RNase A	1ml	1ml×2
蛋白酶 K	1ml	1ml×2
溶液 A	10ml	20ml
溶液 B	10ml	20ml
漂洗液	15ml	15ml×2
洗脱液	10ml	20ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

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，提取组织和细胞的基因组 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。

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。

2、向悬浮液中加入 20ul 的 RNase A (10mg/ml)，55℃ 放置 15min。

3、加入 20ul 的蛋白酶 K (10mg/ml)，充分颠倒混匀，55℃ 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。

- 4、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℃ 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。
- 5、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。
- 6、12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 7、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。
- 8、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。
- 9、12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50℃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℃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:

- 1、试剂盒拆封后，RNase A和蛋白酶K需放置-20℃保存。
- 2、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。
- 3、如果试剂盒中的溶液出现沉淀，可在65℃水浴中重新溶解后再使用，不影响效果。
- 4、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，若需要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。