



北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com

Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-mail:postmaster@oka-vip.com

动物组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒

货号: D16987

规格: 50T/ 100T

保存: 常温保存, 复检期一年。(注: RNase A、蛋白酶 K 以附件形式发货, -20℃保存)

试剂盒内容:

组份	D1700-50T	D1700-100T	保存
RNase A	100μL	100μL×2	-20℃
蛋白酶 K	1mL	1mL×2	-20℃
溶液 A	10mL	20mL	RT
溶液 B	10mL	20mL	RT
漂洗液	15mL	15mL×2	RT
洗脱液	10mL	20mL	RT
吸附柱	50 个	100 个	RT
收集管	50 个	100 个	RT
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 (仅供参考):

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 (每瓶需要单独加入 45mL 无水乙醇)。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 200μL 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 200μL 溶液 A, 振荡至彻底混匀。

2、向悬浮液中加入 2μL RNase A, 55℃放置 5min。

3、加入 20μL 的蛋白酶 K, 充分颠倒混匀, 56℃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



北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com

Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

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 200 μ L 体积溶液 B，充分颠倒混匀，如出现白色沉淀，可放置于 75 $^{\circ}$ 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。

5、加入 200 μ L 无水乙醇，充分振荡混匀 15sec，溶液变清亮。此时可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取。

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 600 μ L 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、重复步骤 7。

9、12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50 $^{\circ}$ 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 50-200 μ L 经 65 $^{\circ}$ 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:

1、试剂盒拆封后，RNase A 和蛋白酶 K 需放置 -20 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 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 50 μ L，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。

