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

哺乳动物基因组 DNA 抽提试剂盒

产品简介:

用分子生物学技术研究复杂的基因组，首先要求制备纯净的高分子质量 DNA，一般分为两个步骤，先裂解细胞、溶解 DNA，接着采用酶学或化学方法去除蛋白、RNA 以及其他大分子。

哺乳动物基因组 DNA 抽提试剂盒(Mammalian genomic DNA extraction kit)采用经典的蛋白酶 K 处理法，可以抽提到 100～150kb 以上的基因组 DNA，提取的基因组 DNA 可用于 Southern 杂交、基因组 DNA 的 PCR 扩增及基因组 DNA 文库的构建等。该试剂盒的提取效率大致为：从 1g 组织可以提取到约 150～200μg 100kb 以上的基因组DNA，从 10^6～10^7Hela 细胞可以提取到约 5～50μg 100kb 以上的基因组 DNA。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCNE0201 50T	Storage
试剂(A): 样品裂解液	50ml	4℃
试剂(B): 蛋白酶 K 溶液	500μl	-20℃ 避光
试剂(C): 乙酸铵溶液	10ml	RT
试剂(D): Nuclease Free Water	10ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 组织或培养细胞
2、 PBS、无水乙醇、70%乙醇、25:24:1 酚/氯仿/异戊醇
3、 离心机、研钵、剪刀、恒温箱、EP 管

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品：①组织样本：切下组织并立即剪成小块，置于液氮中冻结，将 100mg 冻结的组织用预冷的研钵和研杵研碎或用锤子将其捣成碎末；②培养细胞：收集贴壁生长或悬浮生长细胞培养液，贴壁生长细胞需先用胰蛋白酶消化液消化，再用 PBS 清洗 1 次。4℃离心机，1500rpm 离心 1～2min，弃上清，用 1～2ml 预冷的 PBS 再次悬浮离心，如此 2 洗涤次。
2、每 1ml 样品裂解液加入 5μl 的蛋白酶 K 溶液，混匀。每 50mg 组织或 5×10^7 细胞用

0.45~0.55ml 样品裂解液悬浮，悬浮应彻底，不应留下结块。

3、 充分混匀，50℃振荡下温育 12～18h 或过夜。

4、 加入等体积 25:24:1 酚/氯仿/异戊醇，轻轻混合，尽可能减少对 DNA 的剪切。

5、 吸出酚相及中间相(可以吸除少量靠近中间相的水相液体)，剩余的水相用等体积酚/氯仿/异戊醇再抽提 1 次；重复该步骤 1 次。

6、 吸取上层液(水溶液)250～300μl 至新 EP 管中，加入等体积无水乙醇和 1/4 体积的乙酸铵溶液，颠倒混匀数次。4℃ 10000rpm 离心 1min，弃上清。

7、 向沉淀中加入 70%乙醇，4℃ 10000rpm 离心 1min，弃上清。重复该步骤一次。

8、 尽量吸除残余的乙醇，空气干燥，等到不到明显液体时，立即加入 50～100μl Nuclease Free Water 溶解 DNA，4℃或-20℃保存。注意：不可过分干燥基因组 DNA 沉淀，否则会极难溶解；如果发现 DNA 沉淀难以溶解，可以在 4℃用摇床缓慢摇动过夜，以溶解 DNA 沉淀。

9、A_{260}/A_{280} 处检测 DNA 纯度，高纯度的 DNA 一般 A_{260}/A_{280} > 1.8。

注意事项：

1、 如果打算提取大片段的基因组 DNA，应尽量避免基因组 DNA 的物理性剪切。例如避免剧烈振荡含有基因组 DNA 的样品，可以用剪掉枪头尖的枪头吸取基因组 DNA 的样品。

2、 准备细胞样品时，如果细胞量过少(< 3×10^7)，应 0.3ml 含蛋白酶 K 的样品裂解液。

3、 为避免高分子质量 DNA 被剪切，可以不采用乙醇沉淀 DNA，可用透析袋替代乙醇：在 100 倍体积的 TE Buffer 中至少透析 2 次，所用取全部时间应 > 24h。

4、 不可过分干燥基因组 DNA 沉淀，否则会极难溶解。

5、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

6、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期： 12 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0130	胰蛋白酶-EDTA 溶液(0.25%:0.02%)
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCNE0301	核酸助沉剂(Glycogen,5mg/ml)
GCPT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
GCPW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
GCTC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)