

动物组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒说明书

RM0331

保存条件

室温(15°C-25°C) 干燥保存, 1 年有效; 2°C-8°C 保存时间更长。

产品信息

产品名称	产品货号	规格
动物组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒	RM0331S	50 次
	RM0331M	100 次

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。

产品内容

组成	RM0331S	RM0331M
RNase A	1mL	1mLx2
蛋白酶 K	1mL	1mLx2
溶液 A	10mL	20mL
溶液 B	10mL	20mL
漂洗液	15mL	15mLx2
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

使用方法

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°C放置 15min。
- 3、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。
- 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°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 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°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

- 1、试剂盒拆封后, RNase A 和蛋白酶 K 需放置-20°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°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 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。