

细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 (溶液型)

货号: NG402S 100 次

NG402M 200 次

试剂盒组成	保存	100 次	200 次
细胞核裂解液	室温	60 ml	120 ml
蛋白沉淀液	室温	20 ml	40 ml
DNA 溶解液	室温	15 ml	30 ml
RNase A(10 mg/ml)	-20°C	200 μ l	400 μ l
滤柱	室温	100 套	200 套

储存事项:

1. **环境温度低时**细胞核裂解液中某些去污剂成份会析出**出现浑浊或者沉淀**,可在 37°C水浴加热几分钟,轻轻旋摇,即可恢复澄清,**不要剧烈摇晃**,以免形成过量的泡沫。
2. 蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀,可以在 37°C水浴几分钟帮助重新溶解,**如果不能完全溶解,也不影响使用效果**,直接取用上层溶液即可。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化,各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

本试剂盒用于快速的从动植物细胞/组织中提取基因组 DNA。样品研磨或者匀浆后加入细胞核裂解液,首先在强去污剂或者和蛋白酶 K 协同作用下裂解细胞释放出基因组 DNA,接着加入 RNase A 去除 RNA,然后蛋白沉淀液选择性沉淀去除蛋白,最后纯净的基因组 DNA 通过异丙醇沉淀并重溶于 DNA 溶解液。

产品特点:

1. 不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂。
2. 快速,简捷,组织样品操作整个过程可在 1 个小时内完成。
3. 结果稳定,产量高(比离心柱型的产量高一倍以上),OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 1.7~1.9,长度可达 50Kb-150kb,可直接用于 PCR, Southern-blot 和各种酶切反应以及文库构建。

注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成,离心机转速需达到13,000 rpm。
2. 用户需自备异丙醇、70%乙醇、PBS(用于细胞)、液氮研钵/或匀浆器(用于组织)、0.5 M EDTA和蛋白酶K(用于鼠尾)、水浴箱。
3. 开始实验前将需要的水浴先预热好备用。

操作步骤:(实验前请先阅读注意事项)

1. 组织培养细胞
 1. 收集细胞到一个 1.5 ml 离心管;对于贴壁细胞,应该先用胰蛋白酶消化后吹打下来收集。
 2. 13,000 rpm 离心 10 sec,使细胞沉淀下来,弃上清,留下细胞团和大约 10-50 μ l 残留的液体。
 3. 加 200 μ l PBS 重悬洗涤细胞,重复上一步骤,高速涡旋振荡重悬细胞团。
 4. **对于细胞核裂解液裂解效果不好的细胞系(例如 PC12 细胞),在做下一步骤前,应该做几次冻融循环:冻于液氮后,在 95°C水浴融化,重复 4 次。**
 5. 加入 600 μ l 细胞核裂解液,用大口径的枪头(剪去枪头尖)轻柔吹打裂解细胞直至看不见细胞团块。
 6. 接**操作步骤**项下 4。
2. 动植物组织(例如鼠肝脑或者植物叶片)
 1. 600 μ l 冰预冷的细胞核裂解液加入 10-20 mg 新鲜或者解冻的组织,用小匀浆器匀浆 10 sec,将裂解物转入 1.5 ml 离心管。另一种方法:在液氮中研磨 10-20 mg 组织(植物叶片可以适当多加如用 40 mg)成细粉后,转入装有 600 μ l 冰预冷的细胞核裂解液的 1.5 ml 离心管,用大口径枪头吹打混匀。
 2. 将裂解物放置在 65°C水浴 15-30 min。

3. 接操作步骤项下 4。

3. 动物组织（鼠尾）

1. 处理样品前，先加入 120 μ l 0.5 M EDTA (pH8.0) 到装有 500 μ l 细胞核裂解液的 1.5ml 离心管中，混匀后冰预冷备用。
2. 将鼠尾在液氮中研磨成细粉或者将 0.5-1.0cm 的鼠尾巴尖(一定要剪 0-2cm 范围内的尾巴尖,否则裂解效果不好)剪碎放入一个 1.5 ml 离心管后，加入 600 μ l 上步配好的 EDTA/细胞核裂解液。
3. 加入 17.5 μ l 蛋白酶 K 溶液(20 mg/ml)，颠倒混匀。
4. 55°C水浴 放置过夜，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。或者在一个摇床上 55°C水浴 3 h，每一个小时高速涡旋振荡混匀一次。确保鼠尾裂解完全（没剪碎的鼠尾，可能不能完全裂解，产量会低一些）。

4. 加入 1.8 μ l RNase A (10 mg/ml) 至裂解物中，即 RNase A 终浓度 30 μ g/ml，颠倒混匀后 37°C温育 15-30m 去除残留 RNA。然后室温冷却至少 5 min 或者冰浴使恢复到室温。

5. 在恢复到室温的裂解物内加入 200 μ l 蛋白沉淀液后，在涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 25 sec。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。冰浴 5 min。

因样品体积重量小，用涡旋振荡器振荡混匀产生的剪切力并不会剪切打断基因组 DNA。如果用手振荡混匀，不可以上下剧烈振荡混匀，只能适当力度振荡混匀，否则会剪断基因组 DNA；但是力度也不能太小，要保证充分混匀，将粘稠的裂解物打散开，否则 DNA 无法和蛋白质沉淀分离开，离心的时候会和蛋白质一起沉淀下来，造成 DNA 丢失或者降低产量。此外混匀不充分也可能造成蛋白沉淀不充分，最后的产物污染有较大量的蛋白质。因此建议用涡旋振荡器。

6. 13,000 rpm 离心 5 min。这时应该可以见到管底蛋白沉淀，也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。

7. 将上清倒入滤柱中，12,000 rpm 离心 20 sec，收集下滤液到一个新的 1.5 ml 离心管中。

8. 加入等体积的室温异丙醇（约 600 μ l），颠倒 30 次混匀或者直到出现棉絮状（丝状）白色 DNA 沉淀。

注意：颠倒混匀的时候，棉絮状（丝状）DNA 有时会粘附着在盖子或者管口处，即使颠倒也不跟下来，这样导致操作者看不到沉淀，误认为没有得到 DNA。解决办法是略去步骤 9，直接 12,000 rpm 离心 1 min，弃上清，然后接步骤 10。

9. 垂直放置离心管，让白色 DNA 沉淀自然沉到管底，然后尽可能多的吸弃大部分的上清，注意不要吸到沉淀。

如果棉絮状（丝状）DNA 沉淀附着有气泡，则会漂浮在液体表面，而不会沉淀下来，要小心避开沉淀吸取上清。

10. 加入 1ml 70%乙醇，颠倒漂洗 DNA 沉淀，12,000rpm 离心 1min，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，弃上清。

11. 加入 1 ml 70%乙醇，颠倒几次漂洗 DNA 沉淀，12,000 rpm 离心 1 min，弃上清（注意不要把 DNA 沉淀倒掉了），倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇，还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁的残留乙醇，空气晾干沉淀几分钟。

注意不要干燥过头，否则 DNA 极其难溶；也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游如酶切反应。

12. 加入 100 μ l DNA 溶解液重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65°C温育 30-60min（不要超过一小时），期间不时的轻弹管壁帮助重新水化 DNA。也可以在室温或者 4°C放置过夜来重新水化 DNA。

13. DNA 可以存放在 2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在 - 20°C。