

动物基因组 DNA 快速提取试剂盒 使用说明书

产品编号: DE211

储存条件: 常温保存, 保质期 1 年。

产品内容:

产品内容	DE211-50T
裂解液 I (AN)	40 mL
纯化液 II (AN)	20 mL
结合液 III (AN)	50 mL
洗涤液	50 mL
洗脱液 (TE)	10 mL
硅胶膜 DNA 吸附柱	50 套
说明书	1 份

产品介绍:

Coolaber 动物基因组 DNA 快速提取试剂盒不含巯基乙醇等刺激性试剂, 安全无毒。主要用于提取新鲜或者冷冻的动物组织中的基因组 DNA。提取的 DNA OD_{260/280} 一般在 1.8 -1.9 之间, 纯度高, 不含污染和抑制剂, 可以直接用于 PCR、酶切、杂交等后续实验。

注意事项:

1. 裂解液 I 和纯化液 II 容易产生沉淀, 纯化液 II 比较粘稠, 用前均需要放置在 65°C 预热使沉淀溶解、粘稠度降低, 用前充分摇匀。

2. 自备试剂: 氯仿。

(一) 样品裂解:

1. 贴壁细胞

吸尽培养液, 在每 10 cm² 细胞中加入 0.8 mL 预热的裂解液 I, 用枪充分吹打以确保细胞全部裂解, 然后把裂解液转移到 1.5 mL 离心管中。

2. 悬浮细胞

离心收集细胞，吸尽液体，在每 $1-5 \times 10^6$ 悬浮细胞中加入 0.8 mL 预热的**裂解液 I**，用枪充分吹打以确保细胞全部裂解。然后把裂解液转移到 1.5 mL 离心管中。如果是 fibroblasts 或 carcinoma 细胞，细胞使用量不要超过 1×10^6 个细胞。

3. 新鲜或冷冻的组织

- 匀浆处理：将剪切成小块的新鲜或冷冻保存的组织放入 10 mL 或 15 mL 离心管中，每 50-100 mg 组织加 0.8 mL 预热的**裂解液 I**，用剪切式匀浆器匀浆 30 s 左右，然后把裂解液转移到 1.5 mL 离心管中。
- 液氮研磨：称取动物组织 50-100 mg，剪成小块，液氮研磨成粉后，加入已加入 0.8 mL **裂解液 I** 的 1.5 mL 的离心管中。
- 对肝、脾、胰、肾等细胞分裂十分旺盛的组织（细胞中含大量正在复制的 DNA），建议组织的使用量不要超过 50 mg。

（二）样品纯化：

- 在**步骤（一）**所得的约 0.8 mL 的裂解产物中加入 0.4 mL 预热的**纯化液 II**，颠倒数次混匀。（由于**纯化液 II** 比较粘稠，可以将 1 mL 枪头剪去一截再吸取）。
- 65°C 水浴 5-10 min。如果室温放置，DNA 产量会降低 10-20%。
- 加入 200 μ L 自备氯仿，震荡混匀 10-30 秒。
- 12,000 rpm 室温离心 2 分钟。此时上清液将变得透明，中间层有白膜。小心转移上清液到一个新的 1.5 mL 离心管中，避免触及中间层的白膜。

（三）基因组 DNA 收集：

- 将**步骤（二）**所得的上清转移到 5 mL 或者 10 mL 的离心管中，加入 1.5 倍体积的**结合液 III**，颠倒数次混匀后，分多次上同一 DNA 吸附柱，每次上柱后均先室温放置 2 min，然后 12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液。（也可将上清平均转移到两个 1.5 mL 离心管中，分别加入 1.5 倍体积的**结合液 III**）
- 在吸附柱中加入 500 μ L 洗涤液，12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液；重复洗涤一次。
- 再将吸附柱 12,000 rpm 离心 30 s 以甩干乙醇。
- 将吸附柱放入一个干净的 1.5 mL 离心管中。在吸附柱中央加入 50 μ L 洗脱液（65-70°C 预热），室温静置 2 min。12,000 rpm 离心 1 min。将穿透液重新加入吸附柱中央，12,000 rpm 离心 1 min 以洗脱更多基因组 DNA。
- 检测 DNA 质量。将所得的基因组 DNA 保存于 -20°C 冰箱。