

骨组织 DNA 快速提取试剂盒

产品编号: DE301

储存条件: RT 保存, 保质期 1 年。

产品内容:

产品内容	DE301-50T
裂解液 I	50 mL
纯化液 II	15 mL
结合液 III	30 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

自备试剂: 乙醇, 氯仿。

(一) 样品处理:

1. 骨粉的制备: 用自备酒精将骨骼表面擦洗干净, 以防污染物对后续 PCR 的影响, 然后用骨钻在处理干净的骨骼区域钻取骨粉。
2. 如果样品是骨粉成品或商品化骨粉, 可以不作处理。

(二) 样品裂解纯化:

1. 称取 0.2 g 骨粉, 转移到 2 mL 塑料离心管中。
2. 加入 1 mL 裂解液 I, 充分震荡混匀。

注意: 裂解液 I 在 4°C 放置后会析出, 使用前请 65°C 水浴溶解摇匀后再取用。骨粉加裂解液 I 后会很黏稠, 需充分震荡混匀。

3. 65°C 水浴放置 30 min 以上。
4. 加入 0.3 mL 纯化液 II 和 0.2 mL 的氯仿 (自备), 充分震荡混匀。

5. 12,000 rpm 离心 3 min, 小心将上清液转移到一个新的离心管中。

(三) DNA 收集:

1. 在**步骤(二)**所得的上清中加入 0.5 mL **结合液 III**, 颠倒混匀。分两次转移到吸附柱中, 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。
2. 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。
3. 再将吸附柱 12,000 rpm 离心 30 s 以甩干乙醇。
4. 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 2 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 DNA。
5. 检测 DNA 质量。将所得的 DNA 保存于 -20°C。

(四) 实验建议:

1. 骨粉制备是很关键的步骤, 需要将骨骼充分研磨成粉状。
2. 所得的 DNA 分子量不均一, 电泳会呈弥散条带, 一般在 100 bp—20 Kb 之间, 跟骨组织新鲜程度, 骨粉的加工方法等有关。
3. 所得 DNA 经充分纯化, 可以直接用于 PCR 以及 qPCR 等实验。
4. 如 DNA 产量较低, 建议增大样品处理量 (相应增加试剂用量)。

注意: 如提取量扩大 2-3 倍 (0.4-0.6g 骨粉), 可以将与**结合液 III** 混合的上清分 4-6 次转移到同一个吸附柱中, 可以提高 DNA 的浓度。

如提取量扩大 10 倍 (2g 骨粉), 超过吸附柱纯化范围。可以在**(二) 样品裂解纯化** 之后取上清, 用异丙醇或者乙醇沉淀法沉淀 DNA, 用 75% 乙醇洗涤沉淀, 后用 TE 溶解 DNA (DNA 产量比较高, 纯度和吸附柱纯化方式相比稍差)。