

Tissue Genomic DNA Kit

动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

目录号：DNE29

试剂盒组成

Component	DNE29-01 (50 preps)	DNE29-02 (100 preps)
Buffer TL	12 ml	25 ml
Buffer CB	12 ml	25 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2	13 ml	25 ml
	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	
Buffer TE	10 ml	15 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml	1 ml x 2
RNase A (25 mg/ml)	500 µl	1 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温（15-30°C）保存。

Proteinase K 溶解于独特的溶液体系，在常温下非常稳定，方便运输与保存，避免了反复冻融带来的产品品质下降。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒适合从动物组织/细胞（也可用于鼠耳、鼠肌肉、鼠内脏等）中提取总 DNA，纯化过程无需苯酚/氯仿等有机试剂。采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，而其他杂质可流过膜，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度 DNA。提取总量一般在 10-20 μg ，DNA 大小在 23 kb 左右，可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

标准抽提步骤

- 所有离心步骤均可在室温完成，使用普通台式离心机即可。
 - 开始试验前请将需要的水浴或金属浴预热至 56°C 备用。
 - 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！
1. 处理材料
 - a. 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液，10,000 rpm (~11,200 \times g) 离心 1 min，倒尽上清，加入 180 μl Buffer TL，振荡至彻底悬浮；
 - b. 动物组织在液氮中研磨成细粉或剪刀剪成小碎块，取 5-30 mg（脾脏组织用量应少于 10 mg，鼠尾取 0.2-0.5 cm 的尾巴尖）放入 1.5 ml 离心管，加入 180 μl Buffer TL，振荡至彻底悬浮。
注意：鼠尾应尽量剪短成 1 mm 左右小段，以减少后续酶解消化时间。
 2. 加入 20 μl Proteinase K (20 mg/ml)，混匀，在 56°C 放置，直至组织消化溶解。
注意：1) 提取细胞基因组时，只需加入 Proteinase K 混匀，即可继续进行下一步。
2) 不同组织裂解时间不同，通常需 1-3 h 即可完成（鼠尾需要消化过夜），不会影响后续操作。每小时颠倒混合样品 2-3 次，用水浴振荡器也可。
3) 如需去除 RNA，可在完成步骤 2 后加 10 μl RNase A(25mg/ml)溶液，振荡混匀，室温放置 5 min。
 3. **可选步骤：**12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 min，以除掉未消化的类似于鼠毛/骨骼等组织。将上清转移到一个新的离心管中。
 4. 加入 200 μl Buffer CB 和 100 μl 异丙醇，**立刻涡旋振荡充分混匀。**
 5. 将上一步将得到的溶液转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC）中。12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。
-

6. 向吸附柱 AC 中加入 500 μ l Buffer WB1, 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉废液。
 7. 向吸附柱 AC 中加入 600 μ l Buffer WB2 (使用前请检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉废液。
 8. 重复步骤 7。
 9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 尽量除去残留的 WB2, 弃掉收集管和废液。
注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会降低洗脱效率, 影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。为确保下游实验不受残留乙醇的影响, 可以将吸附柱开盖放置几分钟, 以彻底晾干残余乙醇。
 10. 将吸附柱 AC 放入一个新的 1.5 ml 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 μ l Buffer TE 或灭菌水, 室温放置 3-5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 DNA 溶液。-20°C 保存 DNA。
注意: 1) Buffer TE 在 56°C 中预热可以增加产量。也可用无菌水洗脱, 但应确保其 PH 在 7.0-8.5 范围内。
2) 如果要提高 DNA 的终浓度, 可以使用小于 100 μ l TE 洗脱, 也可以将步骤 10 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上, 再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μ g, 推荐用 50 μ l Buffer TE 进行洗脱。
-
