

## 动物组织 DNA 大量试剂盒说明书

### 产品组成

动物组织 DNA 大量试剂盒	15 次制备
Cat. No.	3104015
核酸纯化柱	15 套
蛋白酶 K 贮存液	16 ml
Buffer AT	230 ml
Buffer L7	230 ml
Buffer EX	125 ml
Buffer WS	160 ml
Buffer WB (浓缩液)	70 ml × 2
Buffer TE	60 ml
说明书	1 份

### 产品储存

1. 蛋白酶 K 贮存液请于 -20°C 储存；Buffer L7 请于 2-8°C 储存。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温 (0~30°C)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上 (2~8°C 储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用)。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适合从 ≤2.5 g (脾脏 ≤1 g) 新鲜的或者是冷冻贮藏的人或动物组织中分离纯化多至 1.5 mg 的高纯度总 DNA (包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA)。被溶解的动物组织经过萃取获得粗品 DNA，补加异丙醇后 DNA 将吸附到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，DNA 经 Buffer WS 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇、异丙醇
2. 50 ml 离心管、移液器及吸头
3. 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
4. 离心力大于 12,000 g 的台式离心机 (可配离心 50 ml 离心管的转子)
5. 水浴锅、恒温培养箱和旋涡振荡器

### 使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
2. 将水浴锅温度设置到 56°C 和 70°C，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56°C。
3. 将恒温培养箱设置到 56°C。
4. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

## 操作步骤：

1. 用手术刀切取 $\leq 2.5$  g人或动物组织（脾脏少于1 g），再用刀尖将组织剁成匀浆状，转移组织到一个50 ml离心管（用户自备）中。
  - \* 必须将组织颗粒剁成匀浆状，方能缩短组织的溶解时间。
  - \* 如果所提取的组织中含结缔组织较多，比如皮肤、肌腱、鼠尾等，则应用手术刀刀尖将组织切成尽量小的碎屑，以缩短溶解时间。
2. 加入1 ml蛋白酶K贮存液，再加入15 ml 56°C预热的Buffer AT，旋涡振荡数秒使组织匀浆分散开来。56°C水浴直至组织全部溶解（约1~2小时），期间旋涡振荡数次帮助组织溶解。
  - \* 如果2小时水浴后发现仍有不可溶解的组织颗粒存在，可直接进入步骤3操作，不影响后续DNA的提取。
  - \* 对于皮肤、肌腱等难以溶解的组织，可将离心管放入恒温混匀器或摇床中56°C，900 rpm温育直至组织彻底溶解。
  - \* 如果从新鲜的组织中提取DNA，可能会同时获得部分RNA，但是RNA的存在并不影响PCR相关的实验。如需去除RNA，请在本步骤结束后添加20  $\mu$ l RNase A贮存液（试剂盒不提供，可单独订购，Simgen Cat. No. 8001001），旋涡振荡30秒混匀，室温静置5分钟后再进入步骤3的操作。
3. 加入15 ml Buffer L7，盖紧管盖，用力上下摇晃混合均匀。
4. 加入8 ml Buffer EX，盖紧管盖，用力上下摇晃混合均匀。 $\geq 12,000$  g离心5分钟。
5. 在一个洁净的50 ml离心管中加入8 ml异丙醇备用。
6. 吸取步骤4中的所有离心上清液（约25 ml）转移到步骤5备用的50 ml离心管中，盖紧管盖，混匀上清液和异丙醇。
  - \* 不要吸取下相及相间沉淀，沉淀物会严重影响最终DNA的纯度。
7. 吸取16 ml步骤6中的混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖， $\geq 12,000$  g离心1分钟。
8. 弃50 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到50 ml离心管中，将步骤6中剩余的混合液全部加入到核酸纯化柱中，盖上管盖， $\geq 12,000$  g离心1分钟。
  - \* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将50 ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
9. 弃50 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到50 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入10 ml Buffer WS，盖上管盖， $\geq 12,000$  g离心1分钟。
10. 弃50 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到50 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入15 ml Buffer WB，盖上管盖， $\geq 12,000$  g离心1分钟。
  - \* 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。
11. 重复步骤10一次。
12. 弃50 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到50 ml离心管中， $\geq 12,000$  g离心5分钟。
  - \* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的实验效果。
13. 弃50 ml离心管，将核酸纯化柱置于一个用户自备的50 ml离心管中，在纯化柱中加入2~4 ml 56°C温育的Buffer TE，盖上管盖，56°C恒温培养箱中静置5分钟， $\geq 12,000$  g离心1分钟。
14. 弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将DNA储存于-20°C备用。