



动物组织/细胞/血液基因组 DNA 提取试剂盒

产品编号: NEP062

产品规格: 10T

产品简介:

本试剂盒采用自主研发的独特裂解液和酶相结合的方法裂解材料, 具有效率高、性能稳定、重复性高、速度快等特点。材料被裂解并、经蛋白酶 K 消化后, DNA 在高盐低 pH 的条件下, 与硅基质膜特异性结合, 在低盐高 pH 值条件下, 吸附的 DNA 被洗脱下来。

本试剂盒适用于各种动物组织、动物细胞和血液基因组 DNA 的提取。提取的基因组 DNA 可以直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

组成:

成分	10 次	注意事项
RNase A	0.1 ml	-20℃ 保存
Proteinase K	0.1 ml	-20℃ 保存
Lysis Buffer A	7 ml	室温低时可能有白色沉淀产生, 加热溶解即可
Lysis Buffer B	5 ml	
Wash buffer A	5.4 ml	用前加入 3.6 ml 无水乙醇, 充分混匀
Wash buffer B	3.2 ml	用前加入 12.8 ml 无水乙醇, 充分混匀
Elution Buffer	2 ml	
离心柱	10 个	单个最大吸附量 20 µg
红细胞裂解液	10ml	4℃

实验前试剂准备

Wash buffer A 中加入 3.6 ml 无水乙醇, 充分混匀。

Wash buffer B 中加入 12.8 ml 无水乙醇, 充分混匀。

储存条件: 请按照上表中注意事项的条件保存, 其他未说明的可常温或 4 度保存。

步骤:

1、样品处理

全血: 取 50-300 µl 全血, 加入 3 倍体积的红细胞裂解液, 震荡混匀, 12000rpm 离心 1min, 去上清。加入 450 µl Lysis Buffer A, 震荡混匀。

禽血: 加入 10-100 µl 禽血, 直接加入 600 µl Lysis Buffer A, 颠倒混匀。

动物组织: 取 20-50mg 动物组织, 液氮研磨或匀浆, 然后加入到准备好的 600 µl Lysis Buffer A, 振荡混匀。

动物细胞: 离心收集 10^5 - 10^6 个培养细胞, 加入 50 µl PBS 重悬细胞, 加入 600 µl Lysis Buffer A, 震荡混匀。

2、加入 10 µl Proteinase K, 60 °C 水浴 20 min~40 min, 其间颠倒混匀数次。

如需消化 RNA, 可待样品裂解完全后加入 10 µl RNase A, 混匀, 室温放置 10 min。



若加入样品较多，可适当延长水浴时间，适量增加 Proteinase K 的量，按比例增加 Lysis Buffer A 和 Lysis Buffer B 量。此步骤可以过夜处理。

3、 加入 400 µl Lysis Buffer B，漩涡震荡 30 s。

4、 离心 5 min，将上清转入离心柱中，静置 2 min。

上清可能出现少量白色漂浮物，此为未消化完全的细胞和蛋白质。

5、 12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。

6、 加入 700 µl Wash buffer A（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1min，弃废液。

7、 加入 700 µl Wash buffer B（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1min，弃废液。

8、 加入 500 µl Wash buffer B，12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。

9、 再次 12,000 rpm 离心 2 min，将离心柱置于新的离心管中，并打开离心柱盖，于室温或 37 °C 恒温箱放置 5~10min，直至无明显乙醇味。

10、 在硅基膜中央加入 50~200 µl Elution Buffer 或双蒸水(事先预热 55~65 °C)，置于室温 2 min，12,000 rpm 离心 2 min。所得液体即为基因组 DNA 溶液。

纯化效果检测：

取 2-5µl 得到的 DNA 产物，0.7% agarose 电泳检测 DNA 分子的完整性和紫外分光光度计检测浓度和纯度。

DNA 在 260nm 处有吸收峰，检测时应该使 OD₂₆₀ 值在 0.1 到 1.0 之间数值较准确。OD₂₆₀ 为 1 时大概相当于 50µg/ml 双链 DNA，40µg/ml 单链 DNA。

核酸浓度 (µg/ml) = OD₂₆₀ × 50 × 稀释倍数。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的值应该为 1.7~2.0。

常见问题分析：

常见问题	可能原因	建议
柱子堵塞	裂解消化不充分	适当延长 Proteinase K 消化时间，可过夜消化
	样品过多	样品量不要超过说明书所定最大量；可适当增加 Proteinase K 的用量
DNA 产量低	将沉淀倒入柱子导致柱子堵塞	加大转速和延长离心时间
	Wash buffer A、Wash buffer B 没有加无水乙醇	按说明书加入无水乙醇
	洗脱效率低	洗脱液使用前于 55-65°C 预热；洗脱液 pH 值不合适，应保证在 7.5~8.5
	样品裂解不完全	适当延长裂解时间，可过夜消化
	样品不够新鲜	尽量使用新鲜样品
DNA 纯度低	消化不完全	样品量不要超过规定范围；延长消化时间，使样品充分消化
	洗涤不当	严格按照说明书步骤洗脱
	乙醇未除干净	适当延长晾干时间，使乙醇充分挥发