

Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301 Email:zomanbio@126.com Http://www.zomanbio.com



版本号:2023-05-1

动物组织/细胞基因组DNA快速提取试剂盒

Animal Tissue & Cell Genomic DNA Kit

目录号: ZP332

试剂盒组成	ZP332-1 50次	ZP332-2 100次
Proteinase K(20mg/mL)	1 mL	1 mL×2
Homogenate HT	12 mL	25 mL
Tissue Buffer A	12 mL	25mL
Tissue Buffer B	12 mL	25 mL
Wash Buffer T	30 mL	60 mL
Wash Buffer W2	15 mL	15mL×2
Elution Buffer TE	15 mL	30 mL
DNA Mini Columns	50	100
2 mL Collection Tubes	50	100
说明书	1	1

■ 储存条件

蛋白酶K于-20℃保存。

其他产品储存于室温(15℃-25°C);更长时间的保存可置于2-8°C。



■ 产品简介

本产品可从小于20mg动物组织和小于5×10⁶培养细胞样品中快速提取高质量的基因组DNA。产品操作简单快速,对于简单的单个样品最快20min即可提取完毕。特别优化的提取缓冲液很好的解决了传统基因组提取试剂盒容易堵柱的问题。提取DNA得率高,纯度好,可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

■ 操作步骤:

→ 第一次使用前请先在 Wash Buffer W2 瓶中加入指定量乙醇,加入后请及时打钩标记已加入乙醇,以免多次加入!

消化步骤

- a. 动物组织
- 1. 取5-20 mg组织,用手术刀剁成尽量小的碎片,转移至1.5 mL离心管,加入200 μL Homogenate HT和20 μL Proteinase K,涡旋10 s。

注: 脾、肝、肾等样品富含DNA,样品量小于10 mg。肌肉、皮肤和鼠尾样品量小于20 mg。不同的组织和匀浆的效果决定了消化时长。液氮研磨、电动匀浆器处理可更为有效地裂解组织,减少消化时间。

- 2.56℃水浴0.5-3 h(肌肉、皮肤和鼠尾等样品含结缔组织较多,可过夜消化)。期间颠倒几次混匀。
- 3. 加入200 μL Tissue Buffer A,涡旋10 s。

b. 培养细胞

1. 在1.5 mL离心管中收集小于5×10⁶培养细胞。

注: 计算细胞数量, 收集细胞:

- a)悬浮培养的细胞: 300 g离心5 min/13000 rpm离心10 s,弃上清。
- b)贴壁培养的细胞: 弃培养液,用胰酶消化并悬浮细胞,300 g离心5 min/13000 rpm 离心10s,弃上清。
- 2. 加入200 μ L PBS,枪头吸打悬浮细胞,加入200 μ L Tissue Buffer A和20 μ L蛋白酶K, 涡旋10 s。
- 3.56°C水浴10 min。

纯化步骤

4. RNA清除(选做)

新鲜的样品可能会提取出微量的RNA,如果需要去除,可加入 $4 \mu L$ RNaseA(10 mg/mL)溶液(客户自备,目录号: ZS103),振荡15s,室温放置5min。

- 5. 加入200 μL Tissue Buffer B,上下颠倒几次后涡旋混匀30 s,13000 rpm离心2 min。
- 6. 小心吸取上清到DNA Mini Columns中(Column放入2 mL Collection Tubes中), 12000 rpm离心1 min,弃掉滤液。
- 7. 向吸附柱加入500 μL Wash Buffer T, 12000 rpm离心30 s, 弃掉滤液。
- 8. 向吸附柱加入 $600~\mu L$ Wash Buffer W2(在加入前需确认是否已加入无水乙醇), 12000~rpm离心30~s,弃掉滤液。
- 9. 将DNA Mini Columns放回2 mL Collection Tubes中,12000 rpm空离心2min。
- 10. 取出DNA Mini Columns,放入干净的1.5 mL离心管中,开盖静置1 min,在柱膜的中间部位悬空滴加50-200 μL Elution Buffer TE,室温放置2 min,12000 rpm离心1 min。
- 11. 弃DNA Mini Columns, 洗脱的DNA可立即用于各种实验;或者-20℃储存。

注意: 洗脱体积应不少于50 μ L,体积过少影响回收效率。为了增加DNA浓度,可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中,室温放置2 min后离心洗脱。或者通过多次洗脱以增加DNA总的得率。然而,增加洗脱体积会减少最终产物的浓度。DNA产物应保存在-20°C,以防DNA降解。如果EDTA不影响下游实验,强烈建议加入终浓度1 mM的EDTA。也可使用常规的TE 8.0缓冲液(10mM Tris-HCl,1 mM EDTA pH8.0)洗脱。

■ 注意事项

- 1. 使用前请检查溶液是否析出沉淀,如有,请置于56℃孵育至完全溶解再使用。
- 2. Wash Buffer W2使用前按瓶子标签所示,加入无水乙醇进行稀释。
- 3. Tissue Buffer A、Tissue Buffer B和 Wash Buffer T含有胍盐化合物,操作时要戴乳胶手套及口罩,避免试剂沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时,需用大量清水或者生理盐水冲洗。
- 4. 所有的离心步骤均在室温完成,使用转速可以达到13,000 rpm的台式离心机即可。