

动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

(离心柱型)

产品编号	规格
021603-10	10 次
021603-50	50 次
021603-100	100 次

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心柱和独特的缓冲液系统，提取多种动物（软体动物、水产动物、哺乳动物、节肢类动物、昆虫等）组织\细胞中的基因组 DNA。离心柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，能够高效、专一吸附 DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。

一、试剂盒组成、储存条件

试剂盒组成	021603-10	021603-50	021603-100	保存
纯化次数	10 次	50 次	100 次	
蛋白酶 K (20mg/ml)	1mL /支×1 支	1mL /支×1 支	2mL/支×1 支	-20℃
样品处理液 (ETB)	3mL/瓶×1 瓶	15mL/瓶×1 瓶	30mL/瓶×1 瓶	室温
裂解液(Buffer ATL)	5mL/瓶×1 瓶	20 mL/瓶×1 瓶	40mL/瓶×1 瓶	室温
洗液 1 (DW1)	6mL /瓶×1 瓶	33mL /瓶×1 瓶	66 mL /瓶×1 瓶	室温
洗液 2 (DW2)	2mL /瓶×1 瓶	10mL /瓶×1 瓶	18mL /瓶×1 瓶	室温
Buffer DE	1mL /支×1 支	10 mL /瓶×1 瓶	10 mL /瓶×1 瓶	室温
离心柱	10 个	50 个	100 个	室温
说明书	1 份	1 份	1 份	室温

*需要但未提供的试剂：无水乙醇、RNaseA (25mg/mL)

本试剂盒室温下保存 12 个月不影响使用效果。低温条件下保存时，若裂解液 (Buffer ATL) 产生沉淀，请先将裂解液 (Buffer ATL) 室温 (20-30℃) 条件下放置一段时间，必要时可放 37℃ 水浴中温浴 10 min，以溶解沉淀。蛋白酶 K 收到后请立即使用或放于 -20℃ 下保存，室温放置半年有效。

二、实验前准备

- 56℃ 水浴锅或恒温金属浴、涡旋振荡器、掌心离心机、组织研磨仪
- 蛋白酶 K 溶液需保存 -20℃，从冰箱中取出解冻，反复冻融降低蛋白酶 K 活性。
- 使用前，请按下表准确加入 98-100% 的乙醇。

	10T	50T	100T
洗液 1 (DW1)	6mL	33mL	66mL
乙醇	4mL	20mL	40mL

	10T	50T	100T
洗液 2 (DW2)	2mL	10mL	18mL
乙醇	8mL	40mL	42mL

三、操作步骤 A（离心法）

使用前请先在洗液1（DW1）和洗液2（DW2）中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1、组织样本前处理

- 动物肌肉组织，动物内脏之类的样本，烘干后研磨或直接在液氮中研磨成粉末待用。
- 鼠尾样本，可以剪取一定长度的鼠尾，一般大鼠 3mm，小鼠 6mm，然后再烘干研磨或者直接在液氮中研磨成粉末待用。
- 鱼鳍样本，可以直接将新鲜的鱼鳍剪碎后待用，也可以将鱼鳍烘干后，剪取 4mm*4mm 大小的鱼鳍，然后再剪碎后待用。

2、组织消化处理

- 称取 25-30mg 上述前处理后的组织样本到 1.5mL 无菌离心管。
- 加入 300μL 样品处理液 ETB 和 20μL 的蛋白酶 K，充分振荡混匀，可以用移液器吹打混匀。
- 将离心管放入 56℃ 的金属浴或水浴中，温浴 30min（鼠尾和鱼鳍样本可以延长至 1-2h），期间每隔 10min 上下颠倒离心管几次。
- （可选）温浴完成后，加 2μL 的 RNaseA（25mg/ml；用户自备），混匀静置 5min。

RNA 消化时间取决于样品类型。肝脏和肾脏富含 RNA，需较长的消化时间。

- （可选）12,000 × g 离心 3 分钟，转移上清液至新的 1.5mL 离心管中。

若消化液比较浑浊或存在明显的颗粒，不要省略此步。

- 加入 350 μL 裂解液 ATL，充分颠倒混匀，70℃ 放置 10 min，溶液应变清亮，瞬时离心以去除管盖内壁的水珠。
- 加入 350 μL 无水乙醇，充分振荡混匀 15 sec，此时可能会出现絮状沉淀（絮状物为析出的 DNA），瞬时离心以去除管盖内壁的水珠。
- 吸取 650 μL 混合液到离心柱上，12000 rpm 离心 1 min，弃掉收集管中的废液，将离心柱放回收集管中。
- 将剩下的混合液全部转移到离心柱上，12000 rpm 离心 1 min，弃掉收集管中的滤液，将离心柱放回收集管中。
- 向离心柱中加入 500 μL 洗液 1 (DW1)（请检查是否已经加入无水乙醇），12000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的滤液，将离心柱放回收集管中。**再重复此步骤 7 一次。**
- 向离心柱中加入 500 μL 洗液 2 (DW2)（请检查是否已经加入无水乙醇），12000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的滤液，将离心柱放回收集管中。**再重复此步骤 8 一次。**
- 12000 rpm 空离心 3 min，使吸附膜完全变干。
- 将离心柱放置到新的 1.5 mL 收集管上，向离心柱中央加入 50~100 μL 的 Buffer DE，盖好盖子，室温放置 3 min。
- 12000 rpm 离心 2 min，将所得的核酸放置 -20℃ 保存或立即使用。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于 50 μL，体积过小影响回收效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用 ddH₂O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20℃，以防 DNA 降解。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入离心柱中，室温放置 2 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min。

五、操作步骤 B（负压法）

步骤 1-4 同离心法。

5. 将离心柱连到负压装置（如真空抽滤盒）上，将第4步获得的溶液转移到离心柱中，开启并调节负压至800mba，缓慢吸走液体。
6. 向离心柱依次加入500μL洗液1(DW1)、600μL洗液2(DW2)，使用负压装置使得液体通过离心柱。
7. 干抽2min，使得离心柱上的乙醇挥发完全，然后关掉负压装置；
8. 将离心柱放置到新的1.5 mL收集管上，向离心柱中央加入50~100μL的Buffer DE，盖好盖子，室温放置3 min。
9. 12000 rpm离心2 min，将所得的核酸放置-20℃保存或立即使用。

常见问题解答

该列表可能有利于解决提取过程中所碰到的问题。我们的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
DNA 降解	
电泳条带涂抹	处理过程中，使用无 RNase&DNase 的耗材，样品保证新鲜，避免反复冻融造成样品的降解。
DNA 产量低	
组织裂解不彻底	增加蛋白酶 K 的用量或组织样品减少或尽量将样品粉碎成小块
水产动物组织 DNA 电泳堵孔	水产动物组织（多糖、多酚），请使用我们的磁珠 DNA 纯化试剂盒，对基因组 DNA 进行纯化回收，此类样品不可避免。
洗脱效率不够	增加洗脱体积和洗脱次数。由于基因组 DNA 片段大，水溶性较差。建议进行第三次洗脱以提高产量或提高洗脱液的体积。
RNA 污染	
延长 RNase 消化时间	加入 RNase A 至裂解液中消化去除 RNA 污染
OD260/280 或 OD260/230 比值不正常	
RNA 污染	加入 RNase A 至裂解液中消化去除 RNA 污染
核酸浓度太低	核酸浓度很低时，OD 比值偏差较大