

哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒

产品简介

用分子生物学技术研究复杂的基因组，首先要求制备纯净的高分子质量DNA，一般分为两个步骤，先裂解细胞、溶解DNA，接着采用酶学或化学方法去除蛋白、RNA以及其他大分子。

哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒(Mammalian genomic DNA extraction kit)采用经典的蛋白酶K处理法，可以抽提到100~150kb以上的基因组DNA，提取的基因组DNA可用于Southern杂交、基因组DNA的PCR扩增及基因组DNA文库的构建等。该试剂盒的提取效率大致为：从1g组织可以提取到约150~200μg100kb以上的基因组DNA，从10⁶~10⁷HeLa细胞可以提取到约5~50μg100kb以上的基因组DNA。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS044NE0 50T	Storage
试剂(A):样品裂解液	50ml	4°C
试剂(B):蛋白酶K溶液	500μl	-20°C避光
试剂(C):乙酸铵溶液	10ml	RT
试剂(D):Nuclease Free Water	10ml	RT
使用说明书	1份	

自备材料

- 1、组织或培养细胞
- 2、PBS、无水乙醇、70%乙醇、25:24:1酚/氯仿/异戊醇
- 3、离心机、研钵、剪刀、恒温箱、EP管

操作步骤(仅供参考)

- 1、准备样品：①组织样本：切下组织并立即剪成小块，置于液氮中冻结，将100mg冻结的组织用预冷的研钵和研杵研碎或用锤子将其捣成碎末；②培养细胞：收集贴壁生长或悬浮生长细胞培养液，贴壁生长细胞需先用胰蛋白酶消化液消化，再用PBS清洗1次。4°C离心机，1500rpm离心1~2min，弃上清，用1~2ml预冷的PBS再次悬浮离心，如此2洗涤次。
- 2、每1ml样品裂解液加入5μl的蛋白酶K溶液，混匀。每50mg组织或5×10⁷细胞用0.45~0.55ml样品裂解液悬浮，悬浮应彻底，不应留下结块。

- 3、充分混匀，50°C振荡下温育12~18h或过夜。
- 4、加入等体积25:24:1酚/氯仿/异戊醇，轻轻混合，尽可能减少对DNA的剪切。
- 5、吸出酚相及中间相(可以吸除少量靠近中间相的水相液体)，剩余的水相用等体积酚/氯仿/异戊醇再抽提1次；重复该步骤1次。
- 6、吸取上层液(水溶液)250~300 μ l至新EP管中，加入等体积无水乙醇和1/4体积的乙酸铵溶液，颠倒混匀数次。4°C10000rpm离心1min，弃上清。
- 7、向沉淀中加入70%乙醇，4°C10000rpm离心1min，弃上清。重复该步骤一次。
- 8、尽量吸除残余的乙醇，空气干燥，等到不到明显液体时，立即加入50~100 μ l Nuclease Free Water溶解DNA，4°C或-20°C保存。注意：不可过分干燥基因组DNA沉淀，否则会极难溶解；如果发现DNA沉淀难以溶解，可以在4°C用摇床缓慢摇动过夜，以溶解DNA沉淀。
- 9、A₂₆₀/A₂₈₀处检测DNA纯度，高纯度的DNA一般A₂₆₀/A₂₈₀ > 1.8。

注意事项

- 1、如果打算提取大片段的基因组DNA，应尽量避免基因组DNA的物理性剪切。例如避免剧烈振荡含有基因组DNA的样品，可以用剪掉枪头尖的枪头吸取基因组DNA的样品。
- 2、准备细胞样品时，如果细胞量过少(< 3 \times 10⁷)，应0.3ml含蛋白酶K的样品裂解液。
- 3、为避免高分子质量DNA被剪切，可以不采用乙醇沉淀DNA，可用透析袋替代乙醇：在100倍体积的TE Buffer中至少透析2次，所用取全部时间应 > 24h。
- 4、不可过分干燥基因组DNA沉淀，否则会极难溶解。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12个月。低温运输，按要求保存。