

柱式组织基因组提取试剂盒

产品货号：28105

产品规格：100 次/200 次

产品简介：

本试剂盒适合于从新鲜或冷冻的动物、人组织中提取高纯度总 DNA。本品可纯化获得分子量最大为 50 kb 的 DNA 片段，纯化过程不需使用苯酚或氯仿等有毒溶剂，无需乙醇沉淀。本试剂盒采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可得到高纯度 DNA。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

自备试剂：无水乙醇

包装清单：

产品名称	100 次包装	200 次包装	储存条件
Buffer GTL	20ml	40ml	室温
Buffer PG	20ml	40ml	室温
Buffer PS	20ml	40ml	室温
Buffer PW	18ml	36ml	室温
Buffer EB	10ml	20ml	室温
Proteinase K 溶液	2ml	4ml	-20℃
Spin Columns	100 个	200 个	室温
Collection Tubes	100 个	200 个	室温

操作步骤：

1. 如果提取材料为动物组织，取 25 mg（脾组织用量应少于 10 mg）；如果材料为鼠尾，取一段长度为 0.4-0.6 cm 的大鼠鼠尾或两段长度为 0.4-0.6 cm 的小鼠鼠尾。

- 样本进行液氮研磨或切成小块后置于 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer GTL，将不同样品做好标记。
- 若使用匀浆器处理样本，匀浆前向样本中加入不超过 80 μ l Buffer GTL，匀浆后加入 100 μ l Buffer GTL。

注意：

- 1) 确保各组织的量不要超出推荐范围。
- 2) 组织样本在加入 Buffer GTL 之前用液氮研磨或加入 Buffer GTL 用匀浆器匀浆处理，可以增加裂解效率。
2. 加入 20 μ l Proteinase K，涡旋震荡使样品彻底混匀。56℃ 水浴，直至组织完全裂解，孵育过程中可每隔一段时间颠倒或震荡离心管使样品分散。

注意：

- 1) 不同组织消化时间不同，通常 1-3 小时即可完成，鼠尾需要消化 6-8 小时，必要时过夜消化，不会影响后续操作。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q: 807961520 731791866
邮箱：shsunbao@126.com
http://www.saint-bio.com

- 2) 如果孵育和涡旋震荡后仍然有胶状物质, 延长 56°C 孵育时间或再加入 20 μ l Proteinase K 消化。
- 3) 如需去除 RNA, 可在上述步骤完成后, 加入 4 μ l 的浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液, 涡旋 15 秒, 室温放置 5-10 分钟。
3. 加入 200 μ l Buffer GL, 涡旋震荡充分混匀, 70°C 水浴 10 分钟。短暂离心后加入 200 μ l 无水乙醇, 涡旋震荡充分混匀。

注意:

- 1) 加入 Buffer GL 和无水乙醇后要立即涡旋震荡混匀。
 - 2) 加入 Buffer GL 和无水乙醇后可能会产生白色沉淀, 不会影响后续实验。一些组织 (如脾, 肺) 在加入 Buffer GL 和无水乙醇后可能形成溶胶状产物, 此时推荐进行剧烈震荡或涡旋处理。
 4. 柱平衡: 向已装入收集管 (Collection Tubes) 中的吸附柱 (Spin Columns) 中加入 200 μ l Buffer PS, 12000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
 5. 将步骤 3 所得溶液短暂离心, 全部加入到已装入收集管的吸附柱 (Spin Columns) 中, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入。12000 rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
 6. 向吸附柱中加入 450 μ l Buffer PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
- 注意: 如果纯化的 DNA 用于盐敏感的实验 (例如平末端连接或直接测序), 建议加入 Buffer PW 静置 2-5 分钟再离心。
7. 重复步骤 6。
 8. 12000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液。

注意:

- 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。
9. 将吸附柱放到一个新的 1.5 ml 离心管 (自备) 中, 向吸附膜中间位置悬空滴加 50 μ l Buffer EB, 室温放置 2 分钟。12000 rpm 离心 1 分钟, 收集 DNA 溶液。-20°C 保存 DNA。

注意:

- 1) 洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液, 应保证其 pH 值在 7.0-8.5 之间 (可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)。
- 2) 为了提高基因组提取量, 可将离心得到的溶液重新加到吸附柱中, 室温放置 2 分钟, 12000 rpm 离心 1 分钟。
- 3) 洗脱体积不应小于 30 μ l, 体积过少会影响回收效率。

注意事项:

1. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在 Buffer PW 中加入无水乙醇 (Buffer PW 100 次包装 18ml, 使用前加入 72ml 无水乙醇; Buffer PW 200 次包装 18ml, 使用前加入 144ml 无水乙醇);
2. 所有离心步骤均可室温下进行。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q: 807961520 731791866
邮箱: shsunbao@126.com
<http://www.saint-bio.com>